

На правах рукописи

Фаршатова Екатерина Рафаэлевна

**МЕХАНИЗМЫ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ХИМИЧЕСКИХ  
ФАКТОРОВ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СРЕДЫ НА КОСТНУЮ  
ТКАНЬ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.03.03 - Патологическая физиология

Автореферат диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Екатеринбург – 2015

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные консультанты:**

доктор медицинских наук, профессор  
доктор медицинских наук, профессор

**Камилов Феликс Хусаинович**  
**Еникеев Дамир Ахметович**

**Официальные оппоненты:**

доктор медицинских наук, профессор  
заведующий кафедрой клинической биохимии  
и лабораторной диагностики ФПК и ПП  
ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская  
академия» Минздрава России

**Бутолин Евгений Германович**

доктор медицинских наук, профессор,  
главный научный сотрудник отдела  
фундаментальных и клинико-экспериментальных  
исследований ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский  
институт травматологии и ортопедии»  
Минздрава России

**Пучиньян Даниил Миронович**

доктор медицинских наук, профессор,  
профессор кафедры биохимии и молекулярной  
биологии с курсом клинической лабораторной диагностики  
ГБОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский  
университет» Минздрава России

**Акбашева Ольга Евгеньевна**

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2016г. в \_\_ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 208.102.03, созданного на базе ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 620028, г.Екатеринбург, ул.Репина,3

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. В.И. Климова ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, 17, с авторефератом на сайте ВАК Министерства образования и науки РФ: [www.usma.ru](http://www.usma.ru).

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2015г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор

**Базарный Владимир Викторович**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность проблемы.**

Негативное влияние на костную ткань химических загрязнителей, сопровождающих производственные процессы, является одним из малоизученных аспектов развития остеопении и остеопороза (ОП). Данные литературы о характере действия химических факторов на состояние костной ткани весьма ограничены [А.Ф. Вербовой, 2002; Ф.Х. Камилов и др., 2007; Э.Р. Бикметова и др., 2010; Т.П. Маклакова и др., 2010; С. Virdaud et al., 2012; E.R. Yoness et al., 2012; E.E. Beier et al., 2013; S. Chukraborty et al., 2013]. С этих позиций привлекают внимание токсичные металлы и хлорорганические соединения. Так, болезни костно-мышечной системы, включая малотравматичные переломы, занимают высокие ранговые (3-5-е) места среди работников предприятий по добыче руды и обогащению цветных металлов [И.Г. Махотин, 2004; Э.И. Таирова, 2007; Ж.Е. Баттакова и др., 2008; З.С. Терегулова и др. (ред.), 2010; Э.Р. Шайхисламова, 2010] и химических производств хлорорганического синтеза [С.Ф. Шаяхметов, и др., 2008; С.А. Максимов и др., 2008].

Изучение минеральной плотности костной ткани (МПК) у горнорабочих, добывающих медно-цинковую руду подземным способом, выявило резкое её снижение, которое выявляется в 4 раза чаще, чем в группе контроля. Формирование остеопении у горнорабочих было установлено уже в молодом возрасте, снижение МПК при этом коррелировало со стажем работы в подземных условиях [А.Р. Кудашева, 2005; 2010; Э.Ф. Аглетдинов, и др., 2011; Н.В. Нургалеев и др., 2013].

Исследования, проведенные на химическом предприятии, показали, что у рабочих, имеющих производственный контакт с хлорированными низкомолекулярными ациклическими углеводородами (дихлорэтан, дихлорпропан, хлорвинил, 3-хлорпропен, 3-хлор-1,2-диоксипропан, трихлорпропан, эпихлоргидрид и др.), во всех возрастных группах выявляется резкое снижение костной прочности в 1,5-2 раза чаще, чем у работников других профессий [Ф.Х. Камилов и др., 2007; И.А. Меньшикова и др., 2007; Л.М. Рамазанова и др., 2008; Э.Р. Бикметова и др., 2010]. Развитие остеопороза происходит исподволь, заболевание не имеет четко выраженной ранней клиники, кроме уже развившихся низкотравматичных переломов [И.И. Дедов и др., 2011]. В этой связи особое значение приобретает определение факторов риска остеопороза [В.Г. Кулес и др. 2015; Дж. А. Канис и др., 2012]. С одной стороны, в основе остеопоротического процесса лежат генорегуляторные (инволюционные) механизмы [А.А. Кишкун, 2008; L. Zhang et al., 2014], с

другой, выявлены ведущие факторы риска, обуславливающие его развитие, ускоряющие снижение костной массы, нарушая её микроархитектонику и механическую прочность [О.М. Лесняк, Л.И. Беневоленская, 2010; Д.В. Акимова, 2014; J. Tian et al., 2015].

Негативное влияние химических загрязнителей производственной среды на костную ткань происходит на фоне действия общеизвестных факторов риска ОП, приводят к суммации отрицательных эффектов на процессы ремоделирования. Химические факторы производственной среды могут действовать как до включения инволюционных механизмов снижения костной массы, так и на их фоне. Патогенетические эффекты их действия могут отличаться большим разнообразием. При этом в производственных условиях работники, как правило, подвергаются действию не одного химического вещества, а смеси поллютантов.

Наличие значительного количества факторов развития остеопении и остеопороза определяет необходимость подхода к этой актуальной проблеме как к системному биологическому явлению, имеющему в выраженной степени генетическую основу [Р.И. Хусаинова, Э.К. Хуснутдинова, 2015]. С другой стороны, требуют углубленного исследования и обобщения механизмы действия различных химических факторов в конкретных условиях производства для обоснования и разработки целенаправленных профилактических мероприятий среди работающих в определенных отраслях промышленности.

### **Цель исследования**

Установить ведущие патогенетические факторы повреждения костной ткани при действии компонентов медно-цинковой колчеданной руды и низкомолекулярных ациклических хлорированных углеводов в эксперименте.

### **Задачи исследования**

1. Охарактеризовать при длительном поступлении в организм животных компонентов медно-цинковой колчеданной руды содержание в костной ткани ряда элементов, изменения в крови показателей минерального обмена, маркеров костного ремоделирования (С-концевые телопептиды коллагена I типа и активность костной щелочной фосфатазы).
2. Оценить при действии элементов медно-цинковой колчеданной руды обмен коллагена, состояние оксидантно-антиоксидантной системы и гистологической структуры костной ткани.
3. Выявить при хронической интоксикации компонентами руды изменения гормонального статуса (тестостерон, фоллитропин, лютропин, пролактин, тиреотропин, тироксин, трийодтиронин, паратгормон, кортизол), содержания

25(OH) витамина D<sub>3</sub> и цитокинов (sRANKL, остеопротегерин, склеростин), функционального состояния печени, гистологической структуры печени и почек.

4. Выявить нарушения фосфорно-кальциевого обмена, уровня циркулирующих в крови маркеров костного ремоделирования (С-концевые телопептиды коллагена типа I и костная щелочная фосфатаза) при подострой интоксикации экспериментальных животных низкомолекулярным алифатическим хлорированным углеводородом (дихлорэтан).

5. Исследовать при подострой интоксикации дихлорэтаном обмен коллагена (содержание белковосвязанного и свободного оксипролина, интенсивность включения в белки радиоактивного пролина), интенсивность свободно-радикального окисления и показатели антиоксидантной защиты, гистологическую структуру костной ткани.

6. Определить уровень гормонов (тестостерон, эстрадиол, фоллитропин, лютропин, пролактин, паратгормон) и цитокинов (sRANKL, остеопротегерин, склеростин) в плазме крови. Исследовать функциональное состояние печени, структурные изменения ткани печени и почек при интоксикации животных дихлорэтаном.

7. Оценить эффективность действия антиоксидантного препарата и механоактивированной (нанодисперсной) аморфной формы кальция глюконата на показатели минерального обмена, уровень маркеров ремоделирования костной ткани в плазме крови экспериментальных животных на фоне подострой интоксикации дихлорэтаном.

8. Изучить влияние применения комбинации антиоксидантного препарата с нанодисперсной формой кальция глюконата на обмен коллагена, окислительный метаболизм и гистоструктуру костной ткани, содержание в крови гормонов, регулирующих костный обмен и функциональное состояние печени на фоне подострой интоксикации дихлорэтаном.

### **Научная новизна**

Впервые установлены общие механизмы дискоординации процессов ремоделирования костной ткани с превалированием резорбции при воздействии разных химических факторов производственной среды – хлорированных алифатических углеводородов и элементов, содержащихся в медно-цинковых колчеданных рудах.

Получены новые данные, отражающие изменения структуры и обмена костной ткани при комплексном действии элементов, содержащихся в медно-цинковой колчеданной руде. Накопление в костях ряда тяжелых и токсичных металлов (цинк, медь, ртуть, кадмий, свинец, железо, марганец) приводит к усилению катаболических процессов, дезорганизации и разрушению

микроархитектоники с истончением, деструкцией и рассасыванием костных пластинок, а также к индукции синтеза цитокинов, активирующих остеокластический дифферон. Хроническая интоксикация элементами руды снижает в костной ткани уровень ферментативного и неферментативного звеньев антиокислительной защиты, инициирует свободнорадикальное окисление, вызывает дисбаланс продукции гормонов, участвующих в регуляции ремоделирования, а также нарушения функции и структуры основных органов детоксикации – печени и почек.

Показано, что длительное воздействие низких доз низкомолекулярных ациклических хлорированных углеводородов (дихлорэтан) и компонентов медно-цинковой колчеданной руды приводит к нарушению минерального обмена и ремоделирования костной ткани с превалированием процессов резорбции.

Негативное влияние на состояние костной ткани хлорированных углеводородов характеризуется усилением катаболизма и ингибированием синтеза основного белка внеклеточного матрикса – коллагена, снижением биосинтеза неколлагеновых белков и интенсивности минерализации костного матрикса, развитием процессов остеодеструкции и остеодистрофии, активацией продукции цитокинов, стимулирующих функции остеокластов и остеокластогенез и ингибирующих остеобластогенез.

Установлен свободнорадикальный механизм токсического действия на костную ткань хлорпроизводных алифатических углеводородов. Показано, что развитию деструкции костной ткани способствуют при этом также нарушения гормонального статуса со снижением секреции гормонов анаболического и остеогенного действия и повышением уровня гормонов, оказывающих катаболический и резорбтивный эффект на костную ткань.

Показан положительный эффект совместного применения антиоксидантного препарата и механоактивированной (нанодисперсной) аморфной формы кальция глюконата на метаболизм костной ткани при подострой интоксикации дихлорэтаном в низких дозах. При этом, установлено, что введение нанодисперсной формы кальция глюконата на фоне интоксикации алифатическим галогенуглеводородом оказывает положительное влияние на содержание в крови фосфора и ионизированного кальция, способствует снижению секреции паратгормона и усилению включения радиоактивного  $^{45}\text{Ca}$  в костную ткань. Применение комбинации нанодисперсной формы кальция глюконата с антиоксидантным препаратом в этих условиях приводит к ингибированию процессов свободнорадикального окисления, повышению активности основных антиоксидантных ферментов и общей антиокислительной активности, ингибированию катаболизма и

интенсификации в костной ткани биосинтеза коллагена и неколлагеновых белков, улучшению минерализации кости. Установлено также, что комбинированное лечение антиоксидантом и нанодисперсной формой кальциевой соли глюконовой кислоты положительно отражается на состоянии гормонального фона, вызывая увеличение продукции половых гормонов и снижение паратгормона и пролактина, а также на функции печени. Показано, что использование комбинированного введения препарата кальция и антиоксидантного препарата на фоне интоксикации хлорированным углеводородом способствует сбалансированности течения процессов ремоделирования костной ткани с ингибированием интенсивности резорбции, снижению деструкции и улучшению её гистологической структуры.

**Научно – практическая значимость.**

Установлено, что длительное воздействие в низких дозах хлорированных алифатических углеводородов, элементов медно-цинковой колчеданной руды приводит к ускорению развития остеопенического синдрома. Сформулированы ведущие патофизиологические механизмы токсического действия химических факторов производственной среды на костную ткань. Экспериментально показана эффективность использования механоактивированной (нанодисперсной) аморфной формы кальция глюконата для лечения остеопенических состояний. Установлено корригирующее действие совместного использования антиоксидантного препарата (Триовит) и нанодисперсной формы кальция глюконата (Кальций-МАГ) на нарушения метаболизма и микроархитектоники костной ткани в условиях длительного воздействия на организм низких доз низкомолекулярных алифатических хлорированных углеводородов (дихлорэтан). Результаты проведенных исследований экспериментально подтверждают возможность развития дисбаланса процессов ремоделирования и нарушения метаболизма костной ткани среди работников химических предприятий, имеющих профессиональный контакт с хлорорганическим производством, а также среди горнорабочих, контактирующих с тяжелыми и токсичными металлами. Выявленные патогенетические механизмы остеотоксического действия химических факторов производственной среды позволяют целенаправленно и обоснованно разработать профилактические мероприятия и приемы в соответствующих промышленных предприятиях для снижения частоты костной патологии, а также являются основанием для проведения у работающих периодического контроля состояния костной ткани и фосфорно-кальциевого обмена. Результаты исследований позволили оформить патенты на изобретения Российской Федерации № 2506071 от 10.02.2014 г., № 2511649 от 10.04.2014 г., и № 2533264 от 04.12.2014.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Длительное поступление компонентов медно-цинковой руды приводит к накоплению ряда тяжелых металлов в костной ткани, что сопровождается дискоординацией процессов ремоделирования с превалированием резорбции, нарушениями микроархитектоники с истончением, дезорганизацией, деструкцией и рассасыванием костных пластинок, изменением фосфорно-кальциевого обмена.
2. Подострая интоксикация хлорированными низкомолекулярными ациклическими углеводородами (дихлорэтан) дозозависимо нарушает метаболизм костной ткани, усиливая катаболизм, резорбцию, остеокластогенез и ингибируя развитие остеобластогенеза.
3. Общим механизмом остеотоксического действия химических факторов производственной среды (хлорированные алифатические углеводороды, элементы медно-цинковой колчеданной руды) является интенсификация свободнорадикальных процессов на фоне ингибирования или недостаточности физиологических резервов антиокислительной защиты. Факторами, способствующими развитию остеопенических процессов, при воздействии химических факторов производственной среды являются нарушения функционального состояния печени и почек, дисбаланс содержания гормонов и цитокинов, регулирующих процессы ремоделирования и метаболизма костной ткани.
4. Применение комбинации антиоксидантного препарата с механоактивированной (нанодисперсной) аморфной формой кальция глюконата на фоне подострой интоксикации ациклическим хлоруглеводородом (дихлорэтан) оказывает положительный эффект на костный и фосфорно-кальциевый обмен, гормональный фон и функциональное состояние печени, вызывая корригирующее действие.

### **Степень достоверности, апробация результатов, личное участие автора**

Достоверность результатов и обоснованность выводов базируется на адекватности экспериментальных моделей, достаточном объеме исследований, использовании сертифицированного оборудования и современных методов исследования, обработке результатов исследований с применением статистического пакета Statistica 6,0 for Windows.

Содержащиеся в работе данные получены лично автором или при его непосредственном участии на всех этапах выполняемой работы: постановка задач, методов, постановка экспериментальных исследований, статистическая обработка, оценка, анализ полученных результатов, написание статей, оформление диссертационной работы.



Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на: Республиканской научно-практической конференции с международным участием «Научный прорыв - 2010» (Уфа, 2010); на 75-й Республиканской научно-практической конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины» (Уфа, 2011); Всероссийской научно-практической конференции «Связь заболевания с профессией с позиции доказательной медицины» (Казань, 2011); Всероссийской научно-практической конференции «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева» (Рязань, 2012); Научно-практической конференции с международным участием «Илизаровские чтения» (Курган, 2012, 2015); Международной конференции молодых ученых «Медицинская наука – 2012» (Уфа- 2012); Российской научно-практической конференции «Остеопороз – важнейшая мультидисциплинарная проблема здравоохранения XXI века» (Санкт-Петербург, 2012); 8-й международной крымской конференции «Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии» (Судак, Крым, 2012); III-й Международной научно-практической конференции «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине» (Казань, 2012); VI-й Международной научно-практической конференции «Научная дискуссия : вопросы медицины» (Москва, 2012); IV, VII Российских научно-практических конференциях «Здоровье человека в XXI веке» (Казань, 2012; 2015); X Международной научно-практической конференции «Роль природных факторов и туризма в формировании здоровья населения» (Уфа – Иремель, 2012); Международном симпозиуме «Биохимия основа наук о жизни», посвященного 150-летию образования кафедры биохимии Казанского университета» (Казань, 2013); X юбилейной международной конференции «Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии» (Пицунда, Абхазия, 2014); Российской научно-практической конференции «Медицинская биохимия: достижения и перспективы» (Казань, 2015).

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Основные результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе кафедр патологической физиологии, биологической химии, фармакологии №1 с курсом клинической фармакологии, общей гигиены с курсом гигиенических дисциплин медико-профилактического факультета ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедры биохимии и патофизиологии ГБОУ ВПО «Оренбургская государственная медицинская академия» Минздрава России, кафедры

биологической химии и патофизиологии ГБОУ ВПО «Ижевская государственная медицинская академия» Минздрава России, кафедры биохимии ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, кафедры патофизиологии с курсом клинической патофизиологии ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России.

Полученные результаты исследования использованы при написании монографии «Остеопороз: влияние химических факторов производственной среды на метаболизм костной ткани» (Ф.Х. Камилов и др., Уфа, 2015).

### **Публикации**

Соискатель имеет 69 опубликованных работ, из них, по теме диссертации опубликовано 45 научных работ общим объемом 29,6 печатных листа, в том числе 20 статей в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертации; 21 работа, опубликованная в материалах региональных, российских и международных конференций и симпозиумов, 1 монография, получены 3 патента на изобретения

### **Объем и структура работы**

Диссертация изложена на 268 страницах машинописного текста, содержит 42 таблицы, 34 рисунка. Состоит из введения, обзора литературы, главы описания материалов и методов исследования, трех глав результатов исследования, заключения, выводов, списка литературы, включающего 553 источника, из которых 296 иностранных.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Материалы и методы исследования.** Исследования проведены на 654 белых половозрелых крысах обоего пола массой 180—260 г. Животные содержались в условиях вивария при сбалансированном питании и естественном освещении. Эксперименты были проведены в строгом соответствии с этическими нормами и рекомендациями по гуманизации работы с лабораторными животными, отраженными в «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», и Федеральным законом «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997г.

Для характеристики действия компонентов медно-цинковой колчеданной руды на метаболизм костной ткани была выбрана модель дозированного внутрижелудочного введения суспензии измельченного до мельчайшего порошка руды в растворе крахмала, позволяющая

контролировать массу вводимого вещества. У животных определяли содержание некоторых элементов в костной ткани.

Для моделирования действия ациклических низкомолекулярных хлорорганических соединений, обнаруживаемых в воздухе рабочей зоны в цехах производства хлорвинила и хлорвиниловой продукции на костную ткань, был выбран дихлорэтан (ДЭ) – наиболее широко используемый в нефтехимической и химической промышленности.

Экспериментальные исследования были проведены в отдельных сериях в 3 этапа (таблица 1).

На первом этапе изучались особенности обмена костной ткани при действии компонентов медно-цинковой колчеданной руды. Суспензия мелкого порошка руды, добываемой на Учалинском месторождении ОАО «Учалинский горно-обогатительный комбинат», в 2 % растворе крахмала вводилась ежедневно в течение трех месяцев из расчета 60 мг на 100 г массы животного. Вводимую дозу руды рассчитывали, исходя из минимальной токсичной дозы меди [Н.И. Калетина, 2008], и среднего содержания ее в руде – 3,5%.

На втором этапе исследовали особенности обмена костной ткани при длительном введении (в течение двух месяцев) низких количеств дихлорэтана в суммарных дозах 0,05 ЛД<sub>50</sub> (37,5 мг/кг массы) и 0,1 ЛД<sub>50</sub> (75мг/кг массы) [А.И. Карпищенко и др., 1997]. Дихлорэтан (ДЭ) вводился ежедневно *per os* в виде раствора в оливковом масле.

На третьем этапе оценивали профилактический эффект механоактивированной (нанодисперсной) формы глюконата кальция, витаминного препарата антиоксидантного действия и их комбинации на обмен костной ткани при ежедневной в течение 2-х месяцев интоксикации низкими дозами ДЭ. Суммарная доза ДЭ составила 0,1 ЛД<sub>50</sub>.

На первом этапе опытов контрольные группы животных получали 2 % раствор крахмала, на втором и третьем - адекватный объем оливкового масла. Исследуемые вещества вводили крысам внутрижелудочно с помощью специального зонда в объеме 1 мл. В экспериментах использовали таблетки «Кальция глюконат» (ЗАО «Ирбитский фармзавод») и кальций-МАГ – механоактивированную (нанодисперсную) аморфную форму этого же официального препарата, полученного согласно патента на изобретение РФ №2373195 от 20.11.2009 г [Г.Н. Коныгин и др., 2009] в виде суспензии в оливковом масле в дозах 253 мг/кг массы в день, а также антиоксидантный витаминный препарат «Триовит» («KRKA»), Словения) в виде суспензии в 2 % растворе крахмала в дозе 50 мг/кг. Препараты кальция и триовит вводили в течение последнего месяца на фоне двухмесячной затравки ДЭ.

Таблица 1 — Дизайн исследований

11	Группы животных	Исследуемые показатели
1	2	3
1-й этап Действие компонентов медно-цинковой колчеданной руды на обмен костной ткани, n=186.	1. Контрольная. 2. Введение суспензии порошка руды в течение 3-х месяцев.	А. Общий Ca, P, Mg, $\beta$ -Cross Laps, sRANKL, OPG, склеростин, активность КЩФ в плазме крови.
		Б. Хемилюминесценция, ТБК-активные продукты, общая антиоксидантная активность, активность супероксиддисмутазы (СОД), глутатионпероксидазы (ГПО), каталазы, глутатион восстановленный и продукты окислительной модификации белков эпифизов бедренной кости и костной ткани нижней челюсти.
		В. СО и БСО, ГАГ, включение в коллаген [ $^{14}\text{C}$ ]-пролина, в неколлагеновые белки [ $^{14}\text{C}$ ]-тирозина в эпифизах бедренной кости и костной ткани нижней челюсти.
		Г. Содержание в костной ткани бедра и нижней челюсти Zn, Cu, Fe, Mg, Mn, Cd, Hg, Pb, Sr, Cr.
		Д. Гистологическая структура и гистоморфометрия бедренной кости, рентгеноморфометрия трубчатых костей.
		Е. Тестостерон, ФСГ, ЛГ, пролактин, паратгормон (ПТГ), кортизол, ТТГ, $\text{oT}_3$ , $\text{oT}_4$ и 25(OH) витамин D в плазме крови.
2-й этап. Влияние хлорорганических ациклических углеводов на метаболизм костной ткани, n=180.	1. Контрольная. 2. Интоксикация ДЭ в течение 2-х месяцев в суммарной дозе 0,05ЛД <sub>50</sub> . 3. Интоксикация ДЭ в течение 2-х месяцев в суммарной дозе 0,1ЛД <sub>50</sub>	А. Общий Ca, P, Mg, $\beta$ -Cross Laps, sRANKL, OPG, склеростин, активность КЩФ в плазме крови.
		Б. Хемилюминесценция, продукты ПОЛ (ацилгидроперекиси, кетодиены и сопряженные триены, ТБК-активные соединения), общая антиоксидантная активность, активность СОД, ГПО, каталазы в эпифизах трубчатых костей.
		В. СО, БСО, включение в коллаген [ $^{14}\text{C}$ ] -пролина, в неколлагеновые белки [ $^{14}\text{C}$ ]-тирозина, радиоактивного $^{45}\text{Ca}$ в эпифизах бедренных костей.

		Продолжение таблицы 1
		Г. Гистологическая структура и гистоморфометрия бедренной кости, рентгеноморфометрия трубчатых костей.
		Д. Тестостерон, эстрадиол, ФСГ, ЛГ, пролактин, ПТГ в плазме крови.
		Е. Маркеры функции печени: альбумин, билирубин, холестерин, активность АЛТ, АСТ, ЩФ, $\gamma$ -глутамилтрансферазы в плазме крови. Гистологическая структура печени и почек.
3-этап Эффективность влияния нанодисперсной формы глюконата кальция и антиоксидантного препарата на обмен костной ткани при интоксикации ДХЭ, n=288.	1. Контрольная.	А. Ионизированный $\text{Ca}^{2+}$ , P, Mg, $\beta$ -Cross Laps, КЩФ в плазме крови.
	2. Интоксикация ДЭ в течение 2-х месяцев в суммарной дозе 0,1 ЛД <sub>50</sub> .	Б. Хемилюминесценция, первичные и вторичные продукты ПОЛ, общая антиоксидантная активность, активность СОД, ГПО, каталазы в эпифизах бедренной кости.
	3. Интоксикация ДЭ и введение кальция глюконата.	В. СО и БСО, ГАГ, включение [ $^{14}\text{C}$ ] - пролина в коллаген и $^{45}\text{Ca}$ в костную ткань нижней челюсти и бедра.
	4. Интоксикация ДЭ и введение кальций-МАГа.	Г. Тестостерон, эстрадиол, ФСГ, ЛГ, пролактин, ПТГ, кортизол в плазме крови.
	5. Интоксикация ДЭ и введение триовита.	Д. Гистологическая структура бедренной кости.
	6. Интоксикация ДЭ и введение комбинации кальций-МАГа и триовита.	Е. Маркеры функционального состояния печени (альбумин, билирубин, активность АЛТ, АСТ, ЩФ).

Комплексный физико-химический анализ глюконата кальция после механоактивации (измельчения в энергонапряженной установке-активаторе) показал, что размер частиц составляет 50-300 нм, происходит переход исходного кристаллического порошка в рентгеноаморфное состояние [Г.Н. Коньгин и др., 2005, Н.С. Стрелков и др., 2008]. Кальций-МАГ прошел государственную регистрацию, имеет сертификат № 77.99.23.У.8864.10.08, позволяющий использовать его для профилактических и лечебных целей. Одна капсула триовита содержит 40 мг токоферола, 10 мг бета-каротина, 100 мг аскорбиновой кислоты и 50 мг селена в комплексе с порошкообразными сухими дрожжами. Пересчет дозировки препаратов для животных осуществляли с учетом массы и площади поверхности тела согласно рекомендациям, представленным в «Руководстве по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» (М.; 2005).

Содержание Ca, P и Mg в плазме крови определяли колориметрическим методом наборами реагентов фирмы «HUMAN» (Ca – с использованием окрезол-фталейн-комплексона, P – молибденовокислого аммония, Mg – 1-(2-оксиазо)-2-нафтал-3-(2,4-диметил)-карбоксианилида, ионов  $\text{Ca}^{2+}$  - иономером Frisenius Ionometr –2. Содержание в крови общего белка, холестерина, билирубина, активность аланинтрансаминазы (АЛТ), аспартаттрансаминазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и  $\gamma$ -глутамилтрансферазы (ГГТП) исследовали на полуавтоматическом биохимическом анализаторе «Labsistems», используя наборы фирмы ЗАО «Вектор-Бест». Активность КЩФ изучали методом ИФА с помощью набора реагентов «Metra BAF Kit» фирмы Quidel Corporation, С-концевых телопептидов коллагена типа 1 – «Serum Cross Laps ELISA» фирмы Nordic Bioscience Diagnostic A/S, растворимого RANKL, остеопротегерина и склеростина – «FRE Soluble RANKL», «Osteoprotegerin» и «Sclerostin» фирмы Biomedical Medizinproduct Gmb, 25-гидроксивитамина D – «OSTEIA 25-Hydroxy vitamin D<sub>3</sub>» фирмы «БиоХимМакс» на полуавтоматическом анализаторе «Униплан».

Уровень гормонов оценивали, используя стандартные наборы для радиоиммунологического исследования «RIA Testosterone direct», «RIA ESTRADIOL», «IRMA PTH» (все Франция), «PROLACTIN IRMA KIT», «LH IRMA KIT», «FSH IRMA KIT» «IMMUNOTECH KORTISOL RIA KIT» (все Чехия) с подсчетом *in vitro* на гамма-счетчике ГСБ-1 «ГАММА-12» на базе ЦНИЛ Башгосмедуниверситета ТТГ,  $\text{oT}_3$ ,  $\text{oT}_4$ , с помощью набора реагентов «ТТГ-ИФА-БЕСТ», «Т<sub>3</sub> общий-ИФА-БЕСТ», «Т<sub>4</sub> общий-ИФА-БЕСТ», согласно описанию в инструкциях, прилагаемых к наборам.

В костной ткани определяли содержание свободного (СО) и белковосвязанного (БСО) оксипролина, гликозаминогликанов (ГАГ) по методу, описанному П.Н. Шараевым и др. (1990). Выраженность свободно-радикальных процессов в костной ткани оценивали методом Fe-индуцируемой хемилюминесценции (хемилюминометр ХЛ-008, Россия), по концентрации первичных и вторичных продуктов липопероксидации (ПОЛ) в гептан-изопропаноловых экстрактах [И.А. Волчегорский и др., 2000], ТБК-активных соединений - с помощью набора реагентов «ТБК-АГАТ» фирмы АГАТ-МЕД, окислительно-модифицированных белков [Е.Е. Дубинина и др., 1995]. О состоянии антиоксидантной системы костной ткани судили по содержанию в гомогенатах глутатиона восстановленного [А.И. Карпищенко и др., 1997], общей антиокислительной активности [Г.И. Клебанов и др., 1988], активности супероксиддисмутазы (СОД) с помощью реагентов «RANSOD» фирмы Randox Labor LDT, глутатионпероксидазы (ГПО) – «Glutation Peroxidas» той

же фирмы и каталазы [М.А. Королук и др., 1988].

Интенсивность биосинтеза коллагена в костной ткани определяли по уровню его удельной радиоактивности при введении [ $^{14}\text{C}$ ]-пролина, синтеза неколлагеновых белков в костной ткани – [ $^{14}\text{C}$ ]-тирозина, а процесс минерализации костного матрикса –  $^{45}\text{Ca}$ .

Содержание Fe, Mg, Mn, Hg, Sr, Cr в костной ткани изучали методом атомно-абсорбционной спектрометрии на приборе «Varion»<sup>1</sup>, а Zn, Cu, Cd, и Pb в костной ткани, печени и почках – вольтамперометрическим методом на анализаторе «Экотест-ВА»<sup>2</sup>.

Для гистологического и морфологического исследования тканей (кости, печень, почки) осуществляли стандартную проводку (кость после декальцинации в 7% азотной кислоте), гистологические срезы готовили на микротоме LEICA 4 RM 2145 толщиной 5-6 мкр, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону и по Маллори<sup>3</sup>. Исследование и визуализацию препаратов проводили с использованием микроскопа Leica LVL 108 со специальным программным обеспечением управления настройками и захвата изображения. Морфометрические исследования проводили в 10 полях зрения при увеличении  $\times 20$  и  $\times 100$ . Микрофотографирование производили с помощью Nikon Pix 4500. Рентгеноморфометрию трубчатых костей проводили по В.В. Поворознюку (2003).

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistic 6.0 for Windows. При соответствии распределения признака закону нормального распределения в группах определяли выборочную среднюю ( $\bar{X}$ ) и стандартную ошибку выборочной средней ( $s_x$ ), в остальных случаях – медиану (Me) и межквартильные интервалы [ $Q_1$  и  $Q_3$ ]. Достоверность межгрупповых различий средних величин оценивали по t-критерию Стьюдента и U-критерию Манна-Уитни или в тесте Краскеля-Уолиса [С. Гланц, 1998]. Различия считали значимыми при  $P \leq 0,05$ .<sup>1</sup>

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### **Патофизиологические механизмы развития остеопении при действии компонентов медно-цинковой колчеданной руды.**

При характеристике влияния компонентов медно-цинковых колчеданных руд на обмен костной ткани представлял несомненный

<sup>1</sup> Эта часть работы проведена в испытательном лабораторном центре ФГУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» Роспотребнадзора.

<sup>2</sup> Вольтамперометрический анализ проведен в научно-исследовательской лаборатории филиала ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского» в г. Мелеузе.

<sup>3</sup> Гистологические и морфологические исследования проведены совместно с д.м.н., профессором Каюмовым Ф.А. на кафедре гистологии ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России.

интерес возможность накопления некоторых элементов, содержащихся в рудах, в костной ткани.

Полученные данные свидетельствуют, что в трубчатых костях подопытных крыс накапливаются большинство исследуемых элементов: содержание Pb, Cd, Cu, Zn, Fe, Mn, Hg повышается значительно, Mg - снижается, Cr и Sr - увеличивается незначительно. Аналогичные результаты были получены при изучении содержания этих элементов в кости нижней челюсти.

Исследование содержания в костной ткани белковосвязанного оксипролина и его свободной фракции (таблица 2) выявило усиление катаболических процессов, как в трубчатой кости, так и в кости лицевого скелета. Содержание белковосвязанного оксипролина (БСО), отражающего уровень коллагенов, в костной ткани бедра крыс уменьшилось на 24%, в кости нижней челюсти - на 10%. При этом, концентрация свободного оксипролина (СО), повысилась в трубчатой кости на 45%, в кости лицевого скелета - на 30,7%, характеризую активное расщепление костного коллагена. Уровень ГАГ в бедренной кости несколько возрастал при действии металлов руды, а в кости нижней челюсти не подвергался определенным изменениям.

Таблица 2 – Содержание фракций оксипролина и гликозаминогликанов в костной ткани крыс через 3 месяца ежедневного введения порошка медно-цинковых колчеданных руд, Ме [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]

Показатели	Бедренная кость		Нижняя челюсть	
	Контрольная, n=12	3 месяца, n=15	Контрольная, n=12	3 месяца, n=15
БСО, мкмоль/г ткани	3,55 [3,15; 3,65]	2,70 [2,40; 3,20] P=0,0009	3,00 [1,85; 2,15]	2,71 [2,40; 3,20] P=0,0222
СО, мкмоль/г ткани	0,91 [0,85; 0,92]	1,32 [1,00; 1,36] P<0,0001	1,01 [0,98; 1,10]	1,32 [1,0; 1,96] P=0,0119
ГАГ, мкмоль/г ткани	1046 [1034; 1074]	1191 [1126; 1239] P=0,0013	1047 [1034; 1075]	1091 [1025; 1133] P=0,2613

На изменение метаболизма костной ткани с превалированием резорбтивных процессов указывают и данные, полученные при исследовании содержания маркеров резорбции ( $\beta$ -Cross-Laps) и остеогенеза (КЩФ) в плазме крови подопытных животных (таблица 3).

У опытной группы крыс, при воздействии компонентов медно-цинковых колчеданных руд, увеличивается в крови уровень  $\beta$ -Cross-Laps, а



активность КЩФ не подвергается существенным изменениям, что характеризует превалирование резорбции над процессами костеобразования.

Таблица 3 – Уровень маркеров ремоделирования и регуляторных факторов костной ткани в плазме крови при действии медно-цинковых колчеданных руд, Ме [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]

Показатели	Группы животных		Р
	Контрольная, n=12	3 месяца, n=10	
КЩФ, ед/л	4,50 [1,60; 6,90]	5,00 [3,80; 6,30]	0,4216
β-Cross Lapss, нг/л	0,555 [0,446; 0,648]	1,054 [0,624; 1,589]	0,0322
s RANKL, пмоль/л	0,60 [0,12; 1,29]	0,63 [0,45; 0,75]	0,2074
OPG, пмоль/л	0,41[0,41; 0,43]	0,30 [0,26; 0,38]	0,0427
Склеростин, пмоль/л	12,3[12,3; 12,6]	14,2 [12,5; 14,7]	0,0458

В механизмах контроля костного метаболизма, опосредующих эффектах системных гормональных и локальных регуляторных факторов на клетки, участвующие в ремоделировании, особое место занимает цитокиновая система RANKL-RANK-OPG. RANKL, экспрессируемый предшественниками остеобластов (ОБ) и ОБ, является основным стимулом для остеокластогенеза, взаимодействуя с RANK, содержащийся в остеокластах (ОК) и их предшественниках [T. Wada et al., 2006; B.D. Danay et al., 2007; N. Samee et al., 2008; S. Sagalovsky, M Schonert , 2011]. OPG, также вырабатывается ОБ, является растворимым ложным рецептором RANKL и, взаимодействуя с ним, угнетает формирование ОК и резорбцию костной ткани [S. Jabbar et al., 2011]. Общее «конвергентное» соотношение RANKL/OPG контролирует степень остеокластической дифференцировки, активации и апоптоза ОК.

Уровень sRANKL при действии элементов руды не изменился, OPG снизился, что привело к повышению их соотношения. Коэффициент sRANKL/OPG у контрольной группы животных составил  $1,46 \pm 0,22$  (M±SD), у подопытных -  $2,1 \pm 0,20$  (p=0,0415). Эти данные отражают доминирование процессов остеокластогенеза и интенсификацию резорбции. Содержание склеростина - негативного регулятора остеобластогенеза, повышалось (P=0,0458).

В целом, определение в крови цитокинов костной ткани показывает, что при поступлении в организм животных компонентов медно-цинковой колчеданной руды происходит активация остеокластогенеза и ингибирование генеза клеток остеобластного ряда.

Результаты определения включения в белки кости радиоактивных аминокислот [<sup>14</sup>C]-пролина и [<sup>14</sup>C]-тирозина (таблица 4) показывают, что

при действии компонентов руды в костях периферического и лицевого скелета снижается биосинтез и коллагеновых ( $^{14}\text{C}$ -пролин), и неколлагеновых ( $^{14}\text{C}$ - тирозин) белков.

Нарушение метаболизма в костной ткани отражают и результаты определения показателей минерального обмена (таблица 5). У животных, подвергшихся воздействию компонентов руды, в плазме крови вначале наблюдается статистически значимое повышение содержания кальция, а затем его стабилизация на уровне более низком, чем у контрольных животных. У крыс опытных групп наблюдается снижение содержания фосфора, которое к 3-му месяцу эксперимента достигает статистической значимости.

Таблица 4 - Интенсивность включения радиоактивных аминокислот в белки костной ткани (имп/мин/5 мг белка) при действии компонентов медно-цинковых колчеданных руд, Ме [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]

Группа крыс	Бедренная кость		Кость нижней челюсти	
	[ $^{14}\text{C}$ ]-пролин	[ $^{14}\text{C}$ ]-тирозин	[ $^{14}\text{C}$ ]-пролин	[ $^{14}\text{C}$ ]-тирозин
Контрольная, n=9	742 [438; 870]	1056 [973; 1180]	966 [856; 1102]	1210 [1044; 1310]
3 месяца опыта, n=9	596 [543; 700] P =0,0003	752 [574; 850] P =0,0002	701 [549; 802] P =0,0003	910 [843; 1032] P =0,0003

Таблица 5 - Влияние компонентов медно-цинковой колчеданной руды на содержание кальция, магния, фосфора в плазме крови у крыс, Ме [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]

Показатели	Группа животных			
	Контрольная, n=12	Длительность введения руды		
		1 месяц, n=8	2 месяца, n=10	3 месяца, n=18
Ca, общ.	2,26[2,14;2,41]	2,38[2,21;2,42] P=0,0134	1,95[1,84;2,13] P=0,0086 P <sub>1-2</sub> =0,0032	2,04[1,84;2,17] P=0,0034 P <sub>1-3</sub> =0,0041
P	1,28[0,97;1,38]	1,26[0,98;1,42] P=0,8733	1,18[1,02;1,44] P=0,0349 P <sub>1-2</sub> =0,7612	1,11[1,02;1,16] P=0,0438 P <sub>1-3</sub> =0,0543
Mg	0,84[0,73;0,87]	0,86[0,74;0,88] P=0,7356	0,94[0,9;1,08] P=0,0020 P <sub>1-2</sub> =0,0136	1,17[1,06;1,28] P<0,0001 P <sub>1-3</sub> <0,0001

Примечание: P - различия с группой контроля, P<sub>1-2</sub> и P<sub>1-3</sub> - между группами подопытных животных.

Таким образом, при длительном действии компонентов медно-цинковых колчеданных руд в костной ткани происходит накопление таких

высокотоксичных элементов, как кадмий, свинец, ртуть и других металлов (хром, стронций, марганец, медь, цинк, железо), оказывающих дестабилизирующее действие на обменные процессы. В результате наблюдается снижение содержания коллагеновых белков, связанное с усилением катаболизма этого основного белка внеклеточного матрикса костной ткани. На превалирование резорбтивных процессов указывают и данные исследования маркеров ремоделирования – С-концевых телопептидов коллагена типа I и активности КЩФ, а также определение регуляторных цитокинов sRANKL, OPG и склеростина. Эксперименты с использованием радиоактивных аминокислот демонстрируют ингибирование в костной ткани под влиянием компонентов руды и белковоанаболических процессов.

Гистологические исследования структуры трубчатых костей при действии компонентов руды выявили и в эпифизах, и в диафизах патоморфологические признаки, отражающие усиление резорбтивных процессов, развитие деструктивно-дистрофических изменений с нарушением минерализации внеклеточного матрикса, разрастание плотной волокнистой соединительной ткани и наличие зон остеогенеза (рисунок 1).

Результаты морфометрии трубчатых костей подтверждают данные гистологической картины. У животных, подвергнутых воздействию элементов руды цветных металлов, статистически значимо снижены по сравнению с крысами контрольной группы суммарная площадь ( $Me [Q_1-Q_3]$  2599 [2183-3150]-контроль, 2220 [1678-2799]-опыт на  $мкм^2$ ,  $P=0,041$ ) и поперечный размер костных трабекул (2,5 [1,95-3,1]-контроль, 2,1 [1,7-2,35]-опыт в  $мкм$ ,  $P=0,038$ ), а также толщина суставного хряща эпифиза (7,35 [4,6-9,95]-контроль, 4,9 [3,78-5,79]-опыт в  $мкм$ ,  $P=0,003$ ) бедренной кости.

Исследование состояния свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в костной ткани у животных, подвергнутых хронической интоксикации элементами медно-цинковой колчеданной руды, выявили выраженные изменения. Интенсификация радикалообразования в гомогенатах костной ткани подопытных крыс была установлена при хемилюминесценции (таблица 6), наблюдалось повышение спонтанной светимости ( $Sp$ ), характеризующей течение окислительных процессов без инициации; амплитуды быстрой вспышки ( $h$ ), отражающей процессы переокисления при иницировании солями двухвалентного железа, максимальной амплитуды медленной вспышки ( $HFe^{2+}$ ) и светосуммы ( $SFe^{2+}$ ), зависящие от способности биосубстратов подвергаться окислению. Аналогичные данные были получены при

изучении хемилюминесценции гомогенатов костной ткани нижней челюсти подопытных крыс.

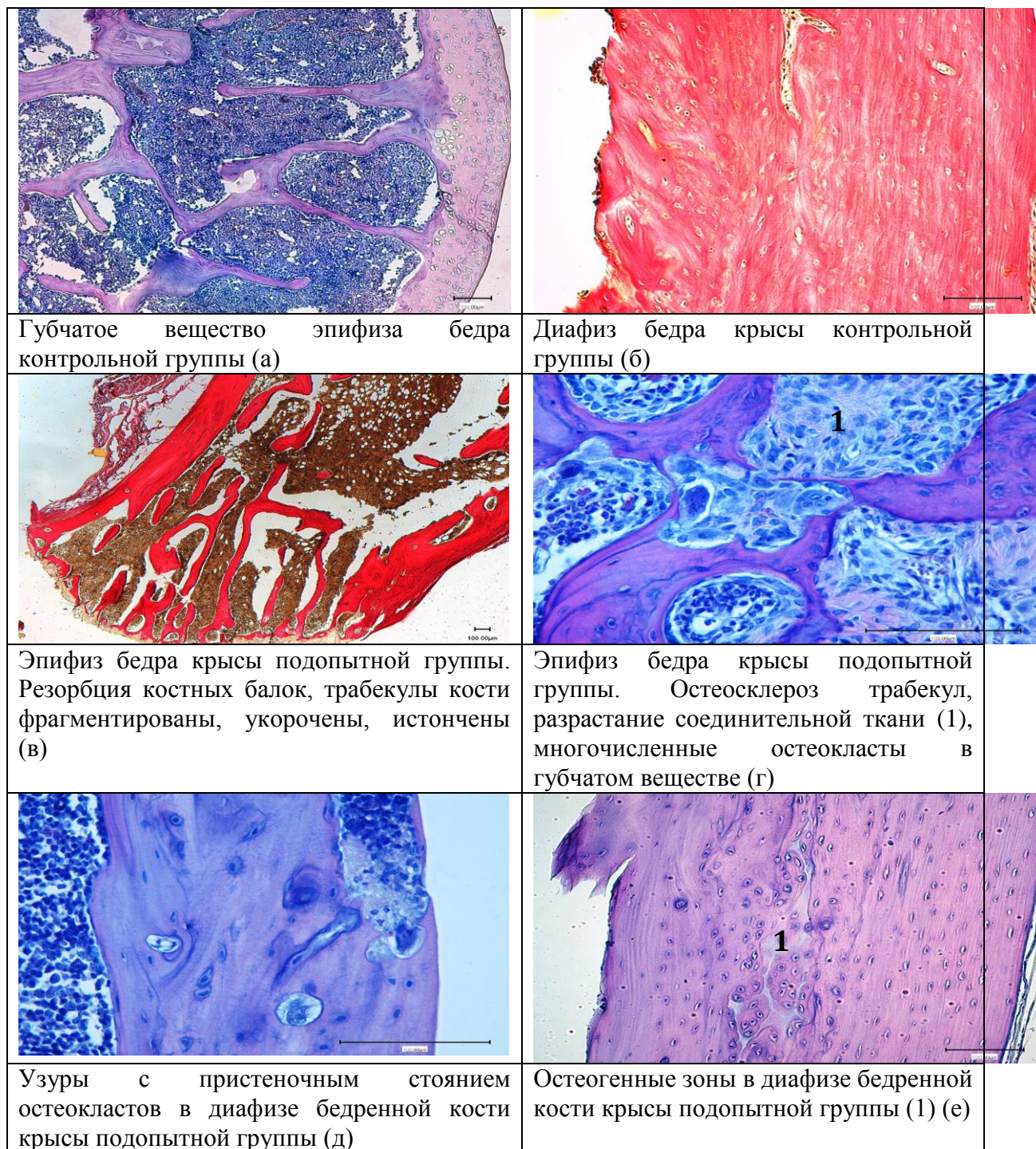


Рисунок 1 - Гистологическая структура эпифиза и диафиза бедренной кости крыс, контрольной и подопытной групп, через 3 месяца интоксикации компонентами медно-цинковой колчеданной руды. Окраска гематоксилином и эозином (а,г,д,е), по Ван-Гизону (б), по Маллори (в) (масштаб 100мкм).

Результаты, полученные при изучении содержания вторичных продуктов ПОЛ – ТБК-активных соединений, а также уровня продуктов

окислительной модификации белков в костях (бедро, нижняя челюсть) подопытных крыс подтвердили интенсификацию свободнорадикальных процессов под действием элементов, содержащихся в рудах цветных металлов.

Таблица 6 - Динамика Fe-индуцированной хемилюминесценции гомогенатов костной ткани бедра крыс при действии компонентов медно-цинковых колчеданных руд, Me [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]

Показатели усл. ед.	Группа крыс		
	Контрольная, n=12	2 месяца, n=11	3 месяца n=15
Sp	1,64 [1,46; 1,89]	2,94 [2,39;3,83] P=0,0001	3,01 [2,83; 3,98] P=0,0001 P <sub>1</sub> = 0,2277
h	4,06 [3,57; 4,52]	6,34 [5,45; 8,28] P=0,0007	7,42 [6,21; 9,30] P=0,00002 P <sub>1</sub> = 0,10176
HFe <sup>2+</sup>	2,20 [1,83; 2,50]	2,54 [1,97;2,89] P=0,1563	2,71 [2,21; 3,18] P=0,0299 P <sub>1</sub> = 0,4539
SFe <sup>2+</sup>	5,57 [5,22; 5,96]	6,01 [5,87; 6,28] P=0,0348	7,05 [6,12; 7,61] P=0,00006 P <sub>1</sub> = 0,00842

Характерно, что параллельно с активацией свободнорадикальных процессов в костной ткани компоненты медно-цинковых колчеданных руд оказывали ингибирующий эффект на состояние физиологической антиокислительной защиты. Как видно из данных, представленных в таблице 7, у животных подопытных групп обнаруживается снижение как общей антиокислительной активности (ОАА) костной ткани, так и его ферментативного и неферментативного звеньев.

Наиболее чувствительными компонентами антиоксидантной защиты при действии токсических металлов являются глутатион, SH-группы пептидов и белков [А.М. Авцын и др., 2000; А.В. Скальный, И.А. Рудаков, 2004]. Это касается действия таких тяжелых металлов как медь, ртуть, свинец, железо и др., которые и накапливались в костной ткани при введении животным порошка руды. Связывание глутатиона активно отражается на глутатионзависимых антиоксидантных ферментах. Уровень восстановленного глутатиона у животных опытных групп снизилось до 60% и 68% от содержания в бедренной кости и кости нижней челюсти контрольной группы. У подопытных крыс наблюдалось подавление в костной ткани активности всех исследованных антиоксидантных ферментов – СОД, ГПО, каталазы.



Таблица 7 – Влияние компонентов медно-цинковой колчеданной руды на показатели антиоксидантной защиты костной ткани у крыс, Ме [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]

Показатели	Группа животных			
	Контрольная, n=12		3 месяца n=15	
	бедро	челюсть	бедро	челюсть
ОАА, % ингибирования	42,8[35,9;48,3]	49,0[45,8;52,9]	30,6[25,9;34,3] P=0,0011 P <sub>1</sub> = 0,0047	29,3[24,6;36,6] P=0,00002 P <sub>1</sub> = 0,0227
Глутатион восстан., мкг/мг белка	2,5[2,1; 2,8]	2,2[1,8; 2,5]	1,5[1,3; 1,8] P=0,0034 P <sub>1</sub> = 0,7932	1,5 [1,2; 1,9] P=0,0046 P <sub>1</sub> = 0,5233
СОД, Ед/мг белка	68,4[62,9;73,3]	72,0[68,6;75,7]	50,2[42,9;53,3] P=0,0003 P <sub>1</sub> = 0,0091	47,6[42,9;52,2] P<0,0001 P <sub>1</sub> = 0,0265
ГПО, Ед/мг белка	491[462;511]	491[468;523]	305 [300; 326] P=0,0001 P <sub>1</sub> = 0,0456	341 [315; 376] P<0,0001 P <sub>1</sub> = 0,0002
Каталаза, мкмоль/мин/мг белка	7,67[7,23;8,07]	6,8[6,47;7,17]	4,93[4,51;5,68] P<0,0001 P <sub>1</sub> = 0,0355	5,08[4,76;5,72] P=0,0002 P <sub>1</sub> = 0,4708

Таким образом, при увеличении концентрации ряда металлов в костной ткани при воздействии руды на организм, вероятно, возможны два механизма действия на окислительный статус: стимуляция свободно-радикальных процессов с повышением интенсивности радикалообразования и снижения эффективности компонентов как неферментативного, так и ферментативного звеньев антиоксидантной системы.

Другим патогенетическим звеном действия элементов, содержащихся в рудах цветных металлов, на состояние костной ткани может являться поражения печени и почек.

Ряду металлов свойственна гепатотоксичность (Cu, Bi, Cd, Be, Cr, Ni, Fe, Sn, Tl и др.) и нефротоксичность (Cu, Pb, Cd, Hg, Cr) [Н.И. Калетина 2008]. Ряд из этих элементов обнаруживается в составе медно-цинковых колчеданных руд. Вольтамперометрическое определение содержания некоторых из них выявило накопление в тканях печени и почек (рисунок 2). Особенно значительное увеличение в тканях установлено в содержании таких высокотоксичных металлов как Cd и Pb.

Определение биохимических маркеров функционального состояния печени показало статистически значимое повышение уровней билирубина, активности ЛДГ, АСТ, АЛТ и ОЩФ, отражающих нарушения

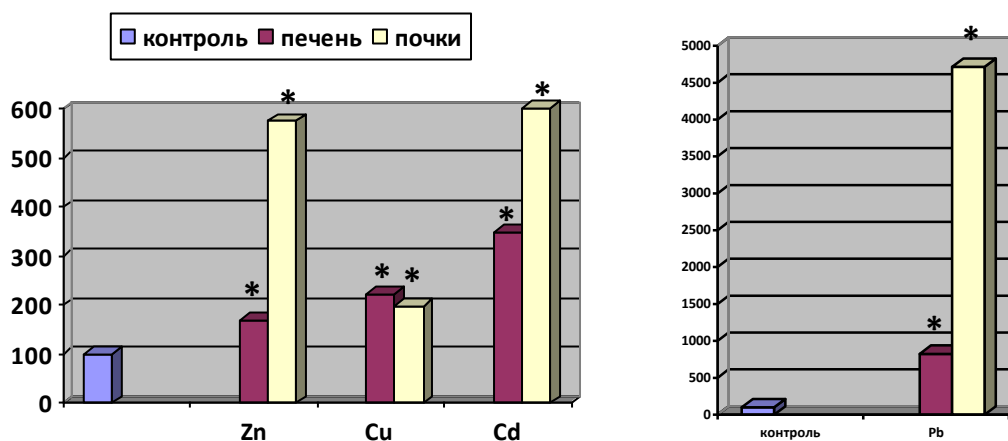


Рисунок 2 - Содержание некоторых элементов в печени и почках крыс при трехмесячном введении порошка медно-цинковой колчеданной руды (в % к контролю),  
\*) – различия статистически значимые.

гепатобилиарной системы, микроструктуры и проницаемости клеточных мембран, целостности гепатоцитов. При исследовании гистологической структуры печени выявлены изменения, которые можно охарактеризовать как токсический гепатит (рисунок 3). В паренхиме печени определяются признаки некробиоза, особенно в области центральных вен. На некоторых участках обнаруживаются атрофия печеночных пластинок, гидрическая дистрофия гепатоцитов, признаки холангита и образование воспалительных инфильтратов.

Заметные морфологические изменения были установлены у подопытных крыс и при исследовании гистологической структуры почек (рисунок 4).

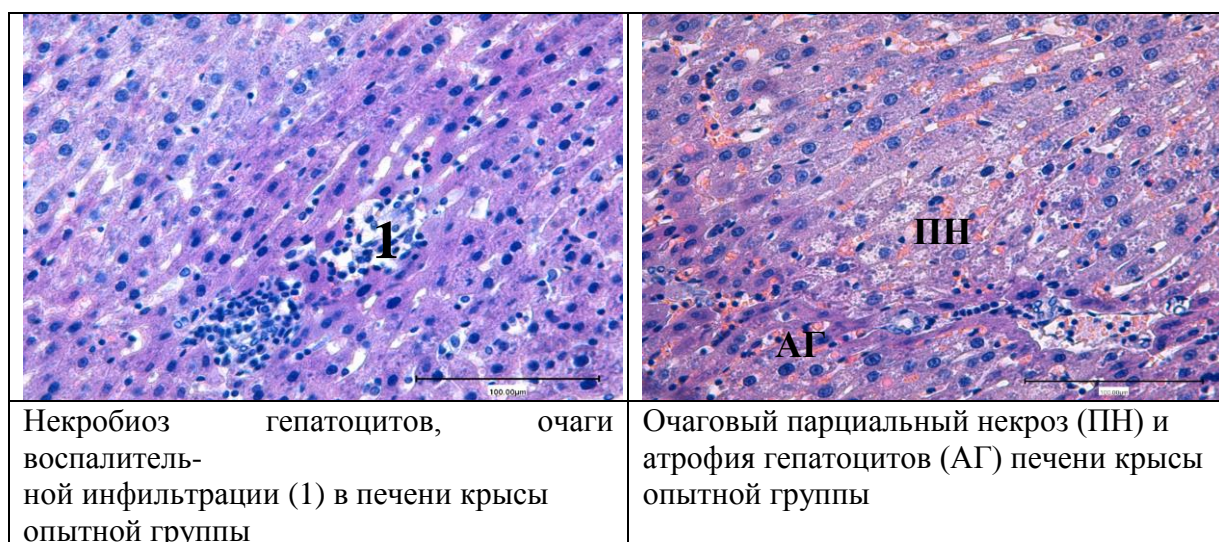


Рисунок 3 - Гистологическая структура печени крыс при введении суспензии порошка медно-цинковой колчеданной руды. Окраска гематоксилином и эозином (масштаб 100мкм).

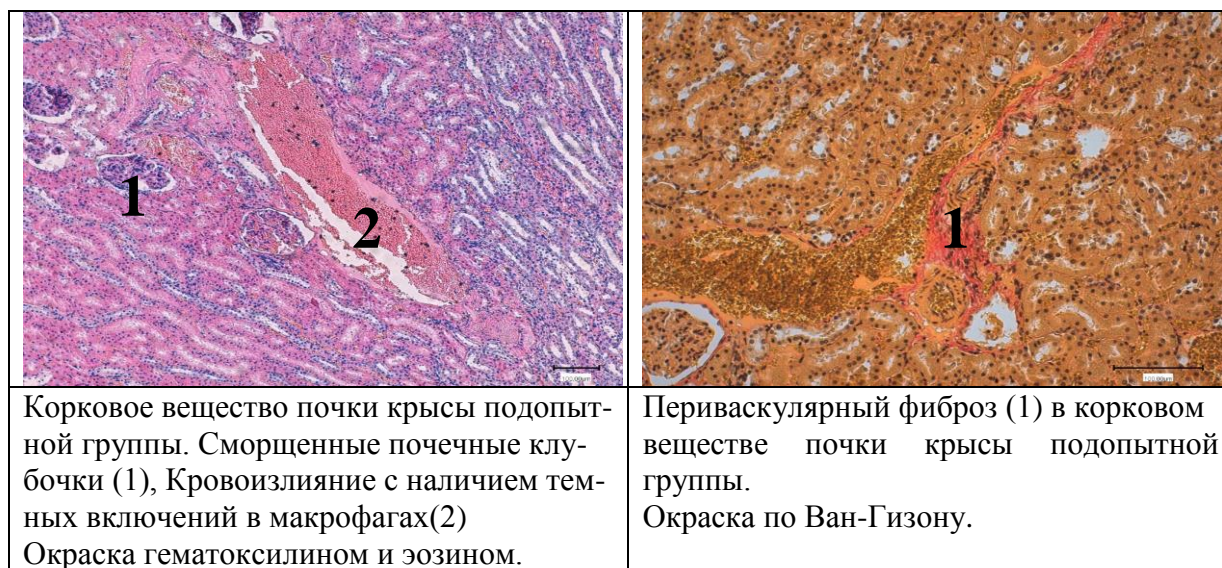


Рисунок 4 - Гистологическая структура ткани почек у крыс при введении компонентов медно-цинковой колчеданной руды (масштаб 100 мкм).

В корковом слое почек наблюдались деструктивно измененные почечные клубочки, их атрофия и сморщивание, единично опустошенные почечные капсулы, определялись обширные очаги воспалительной инфильтрации. Выявлялись нарушения эпителиальных клеток проксимальных и дистальных канальцев, эпителия собирательных протоков мозгового вещества, а также фиброзирование периваскулярной области и интерстиция.

У животных при хронической экспозиции компонентами руды цветных металлов изменились содержание ряда гормонов, оказывающих влияние на ремоделирование и обмен веществ в костной ткани, а также уровень 25(ОН) витамина D<sub>3</sub> (таблица 8).

Таблица 8– Действие компонентов медно-цинковых колчеданных руд на содержание гормонов и 25(ОН) витамина D<sub>3</sub> в крови у самцов крыс, Me [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]

Показатели	Группа животных		
	Контрольная, n=12	Опытная, 3 месяца, n=15	P
Пролактин, МЕ/л	12,6[11,8;18,8]	18,4[16,3;19,4]	0,0292
Тестостерон, нмоль/л	25,9[21,3;30,8]	16,5[12,6;18,3]	0,0001
оТ <sub>3</sub> , нмоль/л	2,30[1,36;3,17]	2,04[1,42;2,36]	0,0433
оТ <sub>4</sub> , нмоль/л	66,0[51,5;78,2]	54,7[48,3;63,6]	0,0038
ПТГ, пг/мл	12,9[9,6;19,4]	18,6[11,9;19,3]	0,0308
Кортизол, нг/мл	18,7 [16,7;19,3]	24,4[18,8;33,3]	0,0048
25(ОН) вит. D, нг/л	18,8 [17,1;21,6]	16,1 [7,1;16,9]	0,0088



У животных опытной группы увеличена секреция ПТГ, кортизола и пролактина, оказывающих резорбтивный эффект на костную ткань, снижена – тестостерона,  $\text{oT}_3$ ,  $\text{oT}_4$ , а также содержание 25(OH) витамина D, обладающих преимущественно анаболическим действием. Эти изменения в содержании гормонов, участвующих в регуляции обмена костной ткани и фосфорно-кальциевого обмена, способствуют усилению процессов резорбции и ингибированию остеогенеза со снижением прочности костной ткани.

### **Механизмы токсического действия ациклических хлорированных углеводов на костную ткань**

Для моделирования действия низкомолекулярных ациклических хлорированных углеводов, было использовано введение в течение двух месяцев экспериментальным животным дихлорэтана (ДЭ) в суммарных дозах  $0,05\text{ЛД}_{50}$  и  $0,1\text{ЛД}_{50}$ .

При действии ДЭ у животных опытных групп были выявлены изменения в плазме крови содержания показателей минерального обмена – кальция, фосфора и магния (таблица 9). Концентрация общего кальция снижалась статистически значимо, дозозависимо, а фосфора и магния – уменьшалась в меньшей степени.

Таблица 9 – Уровень кальция, фосфора и магния (ммоль/л) в плазме крови животных при интоксикации дихлорэтаном,  $\bar{X} \pm s_x$ ,  $n=16$

Показатели	Группы животных					
	Контрольная	ДЭ $0,05\text{ЛД}_{50}$	P	ДЭ $0,1\text{ЛД}_{50}$	P	P <sub>1</sub>
Ca	$2,57 \pm 0,11$	$2,33 \pm 0,05$	0,0241	$2,05 \pm 0,10$	0,0046	0,0423
P	$1,79 \pm 0,10$	$1,62 \pm 0,10$	0,2834	$1,49 \pm 0,09$	0,0532	0,3134
Mg	$1,01 \pm 0,08$	$0,90 \pm 0,07$	0,2140	$0,82 \pm 0,03$	0,0652	0,3461

Примечание: в этой и последующих таблицах P – различия с группой контроля, P<sub>1</sub> – различия между группами.

В плазме крови животных подопытных групп повышается активность и КЩФ, являющейся маркером костеобразования, и уровень С-концевых телопептидов коллагена типа I ( $\beta$ -Cross-Laps), характеризующие резорбтивные процессы (таблица 10). Однако, нарастание содержания  $\beta$ -Cross-Laps значительно превышает увеличение активности КЩФ, демонстрируя доминирование процессов резорбции. В условиях нашего эксперимента при действии ДЭ уровень растворимого RANKL в плазме крови статистически значимо повышался, а OPG, наоборот, снижался, указывая на процесс активации остеокластогенеза и усиление резорбции костной ткани. Уровень склеростина повышался, отражая ингибирование

процессов остеобластогенеза.

Таблица 10 –Уровень маркеров ремоделирования и регуляторных локальных факторов костной ткани в плазме крови при интоксикации дихлорэтаном, Ме [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>], n=10

Показатели	Группы животных		
	Контрольная	ДЭ 0,05 ЛД <sub>50</sub>	ДЭ 0,1 ЛД <sub>50</sub>
КЩФ, Ед/л	4,61 [0,63; 5,21]	7,14 [5,28;8,23] P=0,0246	6,05 [5,42; 8,01] P=0,0566 P <sub>1</sub> = 0,1204
β-Cross Laps, нг/л	0,61 [0,32; 0,78]	0,98 [0,48; 1,25] P=0,0124	1,72 [1,44; 2,21] P=0,0107 P <sub>1</sub> = 0,0228
sRANKL, пмоль/л	0,60 [0,12; 1,29]	-	0,74 [0,73; 0,76] P=0,0405
Остеопротегерин, пмоль/л	0,41[0,41; 0,43]	-	0,26 [0,11; 0,34] P=0,0029
Склеростин, пмоль/л	12,3[12,3; 12,6]		18,5[12,9; 18,7] P=0,0206

При интоксикации малыми дозами ДЭ содержание БСО снижалось, а СО – повышалось, свидетельствуя об интенсификации катаболизма коллагена (таблица 11). Некоторое увеличение уровня ГАГ при действии хлорированного углеводорода, вероятно, связано с активным замещением костной ткани соединительной или хрящевой тканями с более высоким содержанием ГАГ.

Таблица 11 – Содержание белковосвязанного и свободного оксипролина и гликозаминогликанов в эпифизах бедренной кости у крыс при интоксикации дихлорэтаном,  $\bar{X} \pm s_x$

Показатель и	Группы животных		
	Контрольная, n=24	ДЭ 0,05 ЛД <sub>50</sub> , n=20	ДЭ 0,1 ЛД <sub>50</sub> , n=16
БСО, мкмоль/г	3,80 ± 0,114	3,71 ± 0,215 P=0,7450	3,50 ± 0,190 P=0,0876 P <sub>1</sub> = 0,7302
СО, мкмоль/г	0,49 ± 0,015	0,53 ± 0,020 P=0,0512	0,58 ± 0,021 P=0,0402 P <sub>1</sub> = 0,5216
ГАГ, мкмоль/г	1572 ± 63,5	1427 ± 96,3 P=0,6814	1762 ± 51,2 P=0,0423 P <sub>1</sub> = 0,0523

Эксперименты с введением радиоактивных аминокислот [<sup>14</sup>C]-пролина и [<sup>14</sup>C]-тирозина показали, что при действии хлорированных углеводов наблюдается ингибирование биосинтеза как

коллагеновых, так и неколлагеновых белков костной ткани. Уровень удельной радиоактивности коллагена у подопытных животных при введении пролина был на 18%, неколлагеновых белков при введении тирозина - на 46,5% ниже, чем у животных контрольной группы. Снижение инкорпорации радиоактивного  $^{45}\text{Ca}$  в минеральную фазу костной ткани крыс при интоксикации ДЭ в суммарной дозе 0,1 ЛД<sub>50</sub> на 21,5% указывало и на нарушения минерализации.

У подопытных крыс выявилось увеличение показателей, указывающих на усиление свободнорадикального окисления: спонтанной светимости (Sp), амплитуды быстрой вспышки (h) и светосуммы ( $\text{SFe}^{2+}$ ) хемилюминесценции в пробе (таблица 12).

Таблица 12 – Интенсивность хемилюминесценции гомогенатов эпифизов бедренной кости у крыс при интоксикации дихлорэтаном,  $\bar{X} \pm s_x$

Показатели усл. ед	Группы животных					
	Контроль- ная, n=24	ДЭ 0,05ЛД <sub>50</sub> , n=18	ДЭ 0,01ЛД <sub>50</sub> , n=18	P <sub>1-2</sub>	P <sub>1-3</sub>	P <sub>2-3</sub>
Sp	0,45±0,050	0,68 ±0,038	0,93±0,041	0,0034	0,0009	0,0274
h	1,07±0,160	3,01±0,160	3,74±0,216	0,0007	0,0003	0,0506
HFe <sup>2+</sup>	0,83±0,111	0,85±0,140	0,97±0,096	0,7814	0,1376	0,2038
SFe <sup>2+</sup>	2,28±0,184	4,08±0,181	5,14±0,175	0,0009	0,0001	0,0448

Результаты исследования содержания продуктов ПОЛ в гомогенатах эпифизов бедренной кости у животных подтверждают данные, полученные при хемилюминесцентном анализе (таблица 13).

Таблица 13 – Содержание продуктов липопероксидации в гомогенатах эпифизов бедренной кости крыс при интоксикации дихлорэтаном,  $\bar{X} \pm s_x$

Группа животных	Показатели				ТБК-ап, мЛМоль/л
	Гептановая фаза, усл. ед.		Изопропаноловая фаза, усл. ед.		
	ДК	КД и СТ	ДК	КД и СТ	
Контроль-ная, n=18	1,12±0,095	0,88±0,064	1,44±0,070	1,28±0,065	1,83±0,316
ДЭ 0,05ЛД <sub>50</sub> , n =13	1,43±0,052	1,52±0,065	1,56±0,016	1,58±0,017	2,05±0,261
ДЭ 0,05ЛД <sub>50</sub> , n =18	1,72±0,034 P=0,0012 P <sub>1</sub> =0,0362	2,55±0,145 P=0,0008 P <sub>1</sub> =0,0056	1,59±0,042 P=0,0673 P <sub>1</sub> =0,8344	1,69±0,085 P=0,0093 P <sub>1</sub> =0,1374	3,32±0,301 P=0,0231 P <sub>1</sub> =0,0456

В гептановой фазе липидного экстракта, содержащего

преимущественно нейтральные липиды, при интоксикации ДЭ наблюдалось статистически значимое увеличение как первичных (ДК), так и вторичных (КД и СТ) продуктов пероксидации, в изопропаноловой фазе, содержащей преимущественно сложные дифильные липиды, - только КД и СТ. Повышение уровня ТБК-активных продуктов ( $P=0,02311$ ) выявилось при экспозиции токсиканта в большей дозе ( $0,1 \text{ ЛД}_{50}$ )

Согласно сведениям, имеющимся в литературе [В.В. Казимирко и др., 2006] костная ткань обладает низкой антиокислительной защитой и является высокочувствительной к действию окислительного стресса. Активация свободно-радикальных процессов сопровождалась в костной ткани снижением функции антиокислительной защиты (таблица 14).

Таким образом, одним из патофизиологических механизмов остеотоксического действия малых доз ациклических хлорированных углеводов при хроническом поступлении в организм является усиление оксидативных процессов со снижением уровня антиокислительной защиты.

Таблица 14 – Активность антиоксидантных ферментов и общая антиокислительная активность гомогенатов эпифизов бедренной кости крыс при интоксикации дихлорэтаном,  $\bar{X} \pm s_x$

Показатели	Группа животных		
	Контрольная, n=18	ДЭ $0,05 \text{ ЛД}_{50}$ , n=18	ДЭ $0,1 \text{ ЛД}_{50}$ , n=18
ОАА, %, ингибирования	$67,8 \pm 2,48$	$60,1 \pm 4,88$ $P=0,1235$	$48,7 \pm 11,31$ $P=0,0211$ $P_1= 0,0372$
ГПО, Ед/мг белка	$180 \pm 10,56$	$169 \pm 20,28$ $P=0,2331$	$130 \pm 7,51$ $P=0,0072$ $P_1= 0,0058$
СОД Ед/мг белка	$11,5 \pm 1,25$	$10,6 \pm 1,04$ $P=0,3628$	$8,4 \pm 0,84$ $P=0,0316$ $P_1= 0,0618$
Каталаза, мкмоль/мин/мг белка	$8,4 \pm 0,34$	$7,3 \pm 0,20$ $P=0,0404$	$6,0 \pm 0,31$ $P=0,0204$ $P_1= 0,0377$

Гистологическое изучение структуры бедренной кости подтвердили результаты биохимических исследований, свидетельствующих об активации резорбтивных процессов на фоне некомпенсированного остеогенеза. У подопытных животных полученные данные отражают развитие остеопенического состояния с наличием деструктивных изменений с нарушением микроархитектоники кости, проявляющиеся в истончении,

дезорганизации и рассасывании костных пластинок (рисунок 5) с одновременной активацией в отдельных участках остеогенеза, заменой кости хрящевой и грубоволокнистой соединительной тканями.

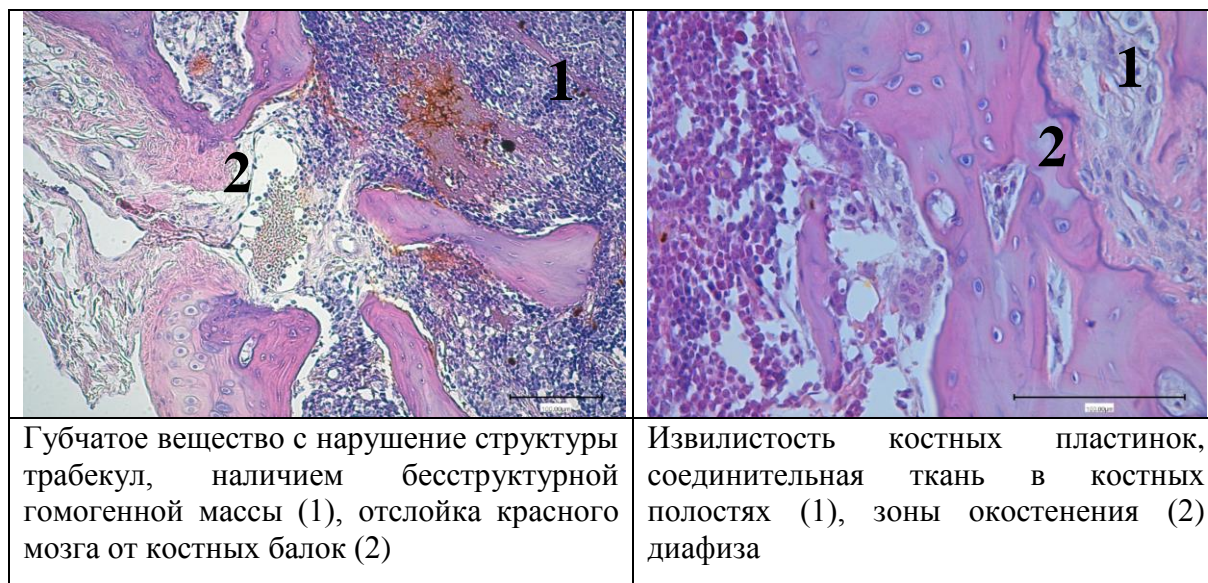


Рисунок 5. Гистологическая структура эпифиза и диафиза бедренной кости крыс подопытной группы, при интоксикации ДЭ. Окраска гематоксилином и эозином (масштаб 100 мкм).

Цитогистологические нарушения в костных структурах подтвердились результатами морфометрии костной ткани.

У животных, подвергнутых субхронической интоксикации ДЭ, в трубчатых костях были снижены суммарная площадь костных балок, поперечный размер костных трабекул в губчатом веществе, поперечный размер стенки бедренной кости и толщина суставного хряща.

При действии хлорированных углеводов, включая ДЭ, наблюдаются выраженные изменения структуры и функции внутренних органов (печень, почки, поджелудочная железа) [В.И. Меркулов, 1986; А.И. Карпищенко и др., 1997; С.А. Максимов, 2006]. Печень и почки активно участвуют в обмене кальция, фосфора и других элементов, являются органами, в которых осуществляются катаболизм и выведение ряда гормонов, регулирующих обменные процессы в костной ткани.

В этой связи были проведены исследования функционального состояния печени, гистологической структуры печени и почек у животных, подвергнутых двухмесячной ежедневной интоксикации ДЭ.

У подопытных крыс наблюдалось статистически значимое снижение содержание в плазме крови альбумина, повышение билирубина, холестерина, активности АСТ и АЛТ,  $\gamma$ -глутамилтранспептидазы и щелочной фосфатазы. Дозозависимые изменения при этом были

установлены лишь относительно активности трансаминаз и щелочной фосфатазы. Однако полученные данные характеризуют гепатотоксичность ДЭ при действии даже в небольших дозах. О поражении печени при подострой интоксикации ДЭ свидетельствуют и данные гистологического исследования при суммарной дозе 0,1 ЛД<sub>50</sub> (рисунок 6).

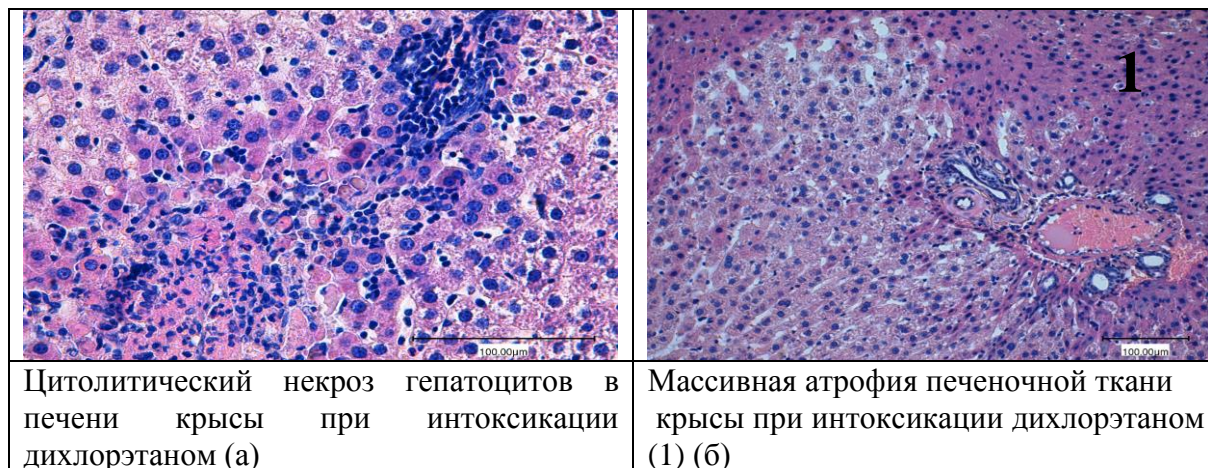


Рисунок 6. Гистологическая структура печени крыс при подострой интоксикации дихлорэтаном в суммарной дозе 0,1ЛД<sub>50</sub>. Окраска гематоксилином и эозином (а), по Ван-Гизону (б) (масштаб 100 мкм).

У крыс, подвергнутых интоксикации ДЭ, обнаруживаются выраженные патоморфологические изменения, характерные для токсического гепатита.

Существенные изменения в группе подопытных животных, подвергнутых подострой интоксикации ДЭ, были установлены и при гистологическом исследовании структуры почек (рисунок 7), затрагивающие все компоненты нефрона и интерстицию, которые можно охарактеризовать как токсическую нефропатию.

Таким образом, при длительной интоксикации малыми дозами ДЭ наблюдаются выраженные изменения в печени и почках, что может явиться дополнительным фактором, приводящим к нарушению фосфорно-кальциевого обмена и метаболизма костной ткани.

Интоксикация хлорорганическими соединениями нередко сопровождается дезинтеграцией функции эндокринных желез с изменением секреции гормонов, участвующих в регуляции обмена в костной ткани – ПТГ, половых гормонов, глюкокортикоидов, йодтиронинов и др. [А.В. Мухорямов и др., 2005; Ф.Х. Камилов, 2007; Э.Ф. Аглетдинов и др., 2008]. Результаты исследования содержания в крови подопытных животных некоторых из них приведены на рисунке 8.

При интоксикации ДЭ уровень ПТГ повышался более 2,5 раз, секреция



половых гормонов (тестостерона - у самцов, эстрадиола и прогестерона - у самок крыс) снижался. При этом наблюдалось увеличение уровня пролактина, снижение – ЛГ, а концентрация ФСГ практически не претерпевала статистически значимых изменений

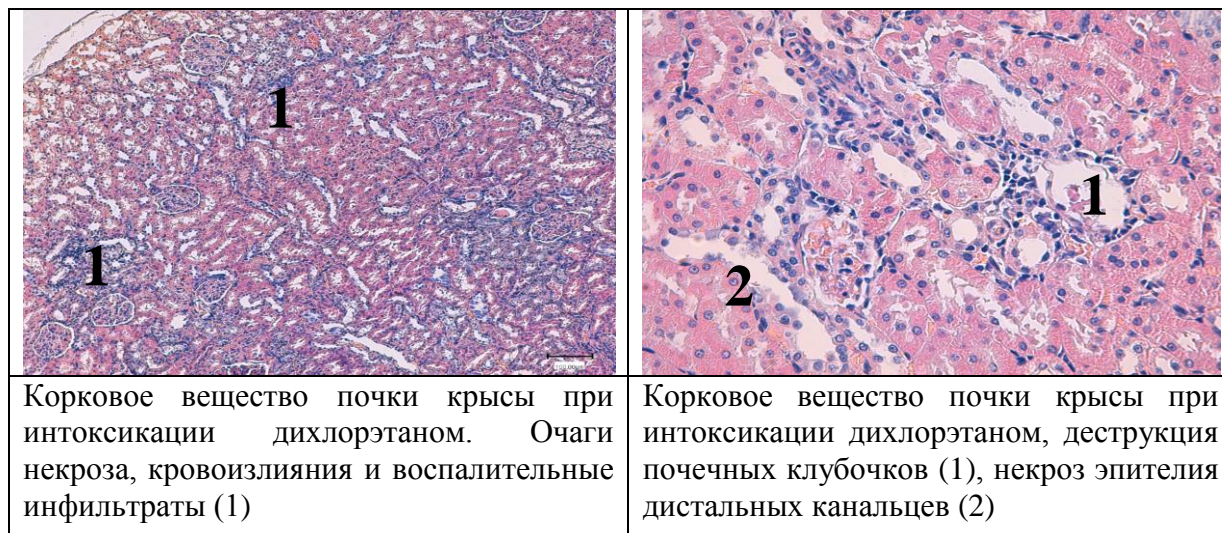


Рисунок 7. Гистологическая структура почек крыс при подострой интоксикации дихлорэтаном. Окраска гематоксилином и эозином (масштаб 100 мкм).

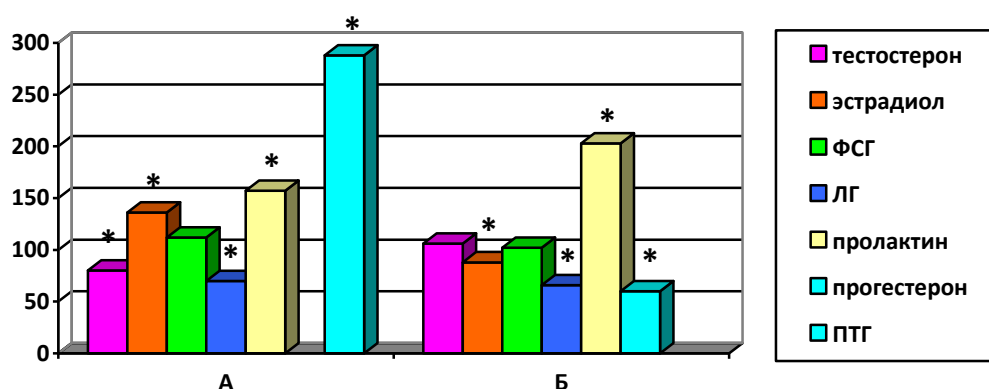


Рисунок 8. Содержание некоторых гормонов в крови самцов (А) и самок (Б) крыс при подострой интоксикации дихлорэтаном в суммарной дозе 0,1 ЛД<sub>50</sub> (в % к контролю, принятому за 100%), \*) –  $p < 0,05$ .

Таким образом, уровень секреции ПТГ и пролактина, оказывающих прорезорбтивный эффект на костную ткань, увеличивался, а половых гормонов, обладающих остеотропным действием, у подопытных животных был ингибирован.

Изучение влияния ациклических хлорированных углеводородов (на примере дихлорэтана) на костную ткань подтвердило их токсическое действие. Это проявлялось повышением содержания в плазме крови маркера резорбции- $\beta$ -Cross Laps, нарушениями минерального обмена со снижением Са,

усилением катаболизма костного коллагена, дезорганизацией гистологической структуры трубчатых костей с развитием остеодистрофии. В механизмах их остеотоксического действия важную роль играют активация свободно радикальных процессов, повышение секреции гормонов, усиливающих резорбтивные процессы, и снижение секреции гормонов с антирезорбтивным действием, а также нарушения функции и структуры печени и почек. При действии хлорированных углеводов наблюдается повышение уровня маркера остеокластогенеза – sRANKL и маркера ингибирования остеобластогенеза - склеростина.

**Влияние на обмен костной ткани витаминного препарата антиоксидантного действия и его сочетания с механоактивированной (нанодисперсной) аморфной формой кальция глюконата на фоне подострой интоксикации дихлорэтаном.**

Результаты проведенных экспериментов на первом и втором этапах исследования показали, что при длительном действии алифатических низкомолекулярных хлорированных углеводов и элементов, содержащихся в медно-цинковых колчеданных рудах, наблюдается активация процессов свободно-радикального окисления на фоне недостаточности и/или истощения физиологической антиокислительной защиты в костной и других тканях. В этой связи поддержание ресурсов антиоксидантной защиты при действии исследованных химических поллютантов производственной среды может стать одним из факторов коррекции нарушений обмена костной ткани.

Проведенные экспериментальные исследования также показали, что при длительном действии даже низких доз поллютантов производственной среды (дихлорэтан и полиэлементы руды) наблюдаются нарушения минерального обмена со снижением в периферической крови содержания кальция. Для поддержания физиологического уровня баланса кальция в профилактических целях широко используются препараты сочетающие соли кальция и витамина D [О.М. Лесняк, Л.И. Беневоленская, 2010; Е.Г. Зоткин, Ю.А. Сафонова, 2010; Ж.Е. Белая, Л.Я. Рожинская, 2013; R. Rizzoli et al, 2008]. Однако в условиях нарушения функции печени и почек возникает необходимость принимать уже активные формы витамина Д, и повышение биодоступности кальция, обеспечение адекватного его поступления в организм, в таких ситуациях является вполне оправданной. В этой связи представляла научный и практический интерес оценка эффективности использования для коррекции кальциевого обмена в экспериментальных условиях нанодисперсной формы кальция глюконата



(«Кальций-МАГ»), который получается путем механоактивированного диспергирования фармакопейного препарата «Кальция глюконат», что по данным авторов [Н.С. Стрелков и др., 2008; Г.Н. Коньгин и др., 2005; 2006; 2009], существенно повышает биодоступность кальция.

Исходя из этих предпосылок, нами были проведены исследования влияния на костную ткань антиоксидантного препарата «Триовит», содержащего в своем составе  $\alpha$ -токоферол,  $\beta$ -каротин, аскорбиновую кислоту, селен и комплекс витаминов дрожжей, нанодисперсной формы кальция глюконата - «Кальций-МАГ» и их сочетания на фоне подострой интоксикации половозрелых крыс низкими дозами дихлорэтана (суммарная доза 0,1 ЛД<sub>50</sub>, вводимый в течение двух месяцев). Исследуемые лекарственные препараты вводили в течение последнего месяца на фоне интоксикации дихлорэтаном. В качестве дополнительного контроля группа животных получала суспензию порошка таблетированной формы кальция глюконата.

Было установлено, что введение триовита и кальций МАГа способствует коррекции содержания в плазме крови Са и Р, маркеров резорбции костной ткани. Наибольший эффект обнаружился при совместном применении антиоксиданта и нанодисперсной формы кальция глюконата (таблица 15).

Таблица 15 – Влияние кальций - МАГа, триовита и их сочетанного применения на содержание маркеров ремоделирования костной ткани у крыс при подострой интоксикации дихлорэтаном, Ме [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]

Группа животных	Маркеры ремоделирования	
	С-концевой телопептид коллагена типа I, нг/мл	Костная щелочная фосфатаза, МЕ/л
Контрольная, n=15	1,7[1,1;2,2]	4,53[3,75;5,00]
I, 0,1ЛД <sub>50</sub> ДЭ, n=15	3,5[3,0;5,2] <sup>a</sup>	5,91[5,51;8,04] <sup>a</sup>
II, ДЭ+кальция глюконат, n=16	2,8[2,0;3,7] <sup>a</sup>	5,52[4,45;6,87] <sup>a</sup>
III, ДЭ+Кальций-МАГ, n=14	2,4[1,3;4,0] <sup>б</sup> P <sub>1</sub> =0,0068	6,05[4,85;8,03] <sup>a,в</sup> P=0,0071
IV, ДЭ+триовит, n=16	2,3[2,1;2,6] <sup>б</sup>	5,05[3,95;5,68] <sup>б,в,г</sup>
V, ДЭ+триовит+ Кальций-МАГ, n=15	2,2[1,9;2,9] <sup>б,в,г</sup>	6,13[4,90;7,75] <sup>a,в,д</sup> P <sub>4</sub> =0,0084

Примечание: в данной и последующих таблицах <sup>a)</sup> P<0,05 по сравнению с контролем, <sup>б)</sup> с 1-й, <sup>в)</sup> со 2-й, <sup>г)</sup> с 3-й и <sup>д)</sup> с 4-й группами подопытных крыс.

Комплексное использование триовита и кальций-МАГа оказывало более заметное по сравнению с их отдельным применением ингибирующее действие и на катаболизм коллагена, характеризуемого по уровню белковосвязанного и свободного оксипролина в костной ткани бедра животных, подвергнутых интоксикации дихлорэтаном (рисунок 9).

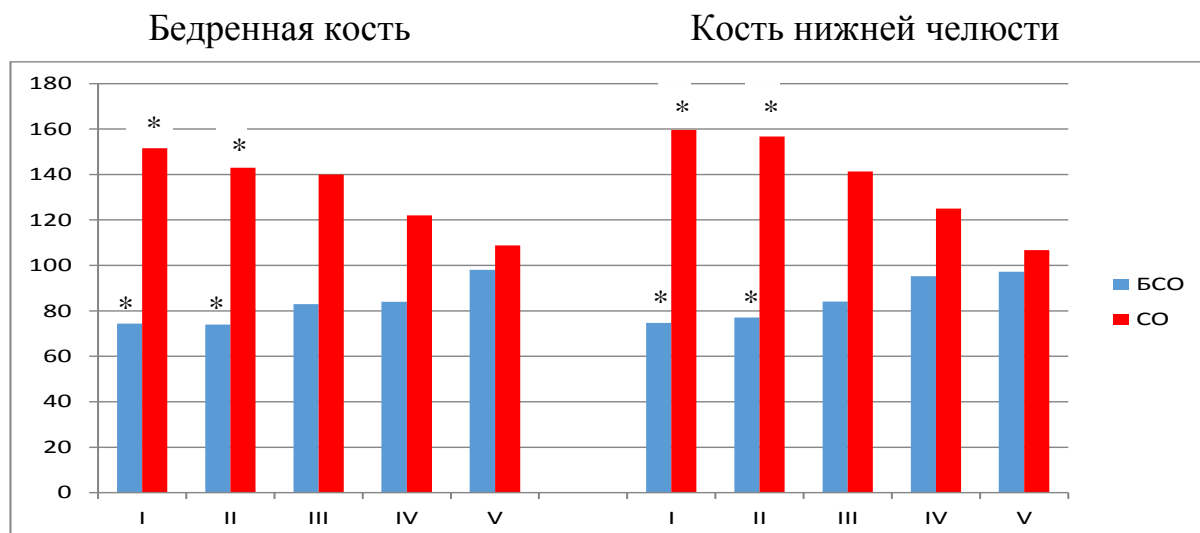


Рисунок 9. Влияние кальций МАГа, триовита и их сочетания на уровни фракций оксипролина в костной ткани при длительном поступлении дихлорэтана (в % к группе контроля).

Интенсивность биосинтеза коллагена по включению  $^{14}\text{C}$ -пролина при этом значительно повышалась, а увеличение инкорпорации радиоактивного кальция ( $^{45}\text{Ca}$ ) в кости бедра и нижней челюсти крыс свидетельствовало об усилении процессов минерализации. Использование для терапевтических целей антиоксидантного препарата и его сочетания с нанодисперсной формой кальция глюконата на фоне продолжающейся интоксикации дихлорэтаном оказывало статистически значимое влияние на течение свободнорадикальных процессов, снижая спонтанную светимость и амплитуду быстрой вспышки, характеризуя подавление как исходного, так и индуцированного ионами  $\text{Fe}^{2+}$  радикалообразования при изучении интенсивности хемилюминесценции гомогенатов костной ткани. Эти данные подтверждались снижением накопления в костной ткани первичных и вторичных продуктов липопероксидации (таблица 16).

Введение подопытным животным триовита и его сочетания с кальций-МАГом (группа V) способствовало повышению до физиологического уровня общей антиокислительной активности и активности ГПО эпифизов трубчатой кости, активность СОД и каталазы также значительно повышалась, но не достигала контрольных величин (таблица 17).

Таблица 16 – Содержание продуктов липопероксидации в гомогенатах эпифизов бедренной кости крыс при подострой интоксикации дихлорэтаном и влияние введения триовита, кальций - МАГа и их сочетания, Ме, [Q<sub>1</sub>; Q<sub>3</sub>]

Группа животных	Показатели, усл. ед.				ТБК-ап нмоль/г ткани
	Гептановая фаза		Изопропановая фаза		
	ДК	КД и СТ	ДК	КД и СТ	
Контрольная, n=15	0,73 [0,72;0,75]	0,62 [0,58;0,65]	0,96 [0,94;0,98]	0,74 [0,71;0,80]	2,79 [2,70;3,07]
I, n=15	0,95 <sup>a</sup> [0,90;0,98]	0,93 <sup>a</sup> [0,86;0,94]	1,32 <sup>a</sup> [1,01;1,36]	0,97 <sup>a</sup> [0,93;0,98]	4,31 <sup>a</sup> [4,10;4,42]
II, n=15	0,96 <sup>a</sup> [0,84;0,99]	0,89 <sup>a</sup> [0,74;0,94]	1,28 <sup>a</sup> [1,07;1,32]	0,93 <sup>a</sup> [0,84;0,98]	4,07 <sup>a</sup> [3,36;4,12]
III, n=15	0,94 <sup>a</sup> [0,85;0,97]	0,87 <sup>a</sup> [0,79;0,90]	1,29 <sup>a</sup> [0,99;1,36]	0,89 <sup>a</sup> [0,80;0,96]	3,96 <sup>a</sup> [3,65;4,11]
IV, n=15	0,80 <sup>a,б,в,г</sup> [0,77;0,84]	0,66 <sup>б,в,г</sup> [0,63;0,68]	0,99 <sup>б,в,г</sup> [0,95;1,18]	0,82 <sup>б,в</sup> [0,74;0,92]	3,06 <sup>б,в,г</sup> [2,95;3,16]
V, n=15	0,76 <sup>б,в,г</sup> [0,72;0,82]	0,67 <sup>б,в,г</sup> [0,62;0,71]	0,95 <sup>б,в,г</sup> [0,92;1,28]	0,79 <sup>б,в,г</sup> [0,70;0,82]	3,02 <sup>б,в,г</sup> [2,85;3,2]

В бедренной кости этой группы животных в отличие от крыс, не получавших при интоксикации дихлорэтаном лечения, заметно преобладали признаки остеогенеза в эпифизе кости с выраженной зоной гипертрофированного хряща и наличием зоны окостенения.

Таблица 17 – Влияние кальций - МАГа, триовита и их сочетания на активность антиоксидантных ферментов и общую антиокислительную активность гомогената эпифизов бедренной кости крыс, подвергнутых интоксикации дихлорэтаном, Ме [Q<sub>1</sub>;Q<sub>3</sub>]

Группа животных	СОД, Ед/мг белка	ГПО, Ед/мг белка	Каталаза, мкмоль/мин/мг белка	ОАА, % ингибирования
Контрольная, n=15	68[65;70]	465[459;472]	7,5[7,0;8,0]	37[28;55]
I, n=15	41[38;44] <sup>a</sup>	263[190;316] <sup>a</sup>	4,6[4,0;5,7] <sup>a</sup>	21[17;36] <sup>a</sup>
II, n=16	48[43;52] <sup>a</sup>	307[205;329] <sup>a,б</sup>	4,7[4,0;5,3] <sup>a</sup>	22[18;30] <sup>a</sup>
III, n=14	49[36;53] <sup>a</sup>	306[203;328] <sup>a,б</sup>	4,7[4,1;4,95] <sup>a</sup>	22[19;34] <sup>a</sup>
IV, n=16	57[42;62] <sup>a,б,в,г</sup>	417[363;430] <sup>a,б,в,г</sup>	5,8[5,6;6,6] <sup>a,б,в,г</sup>	35[28;41] <sup>б,в,г</sup>
V, n=15	57[48;62] <sup>a,б,в,г</sup>	428[388;447] <sup>б,в,г</sup>	5,8[5,7;6,7] <sup>a,б,в,г</sup>	36[27;46] <sup>б,в,г</sup>

Эффективность применения сочетания антиоксидантного препарата и нанодисперсной формы кальция глюконата была установлена и при изучении гистологической структуры костной ткани подопытных животных (рисунок 10).

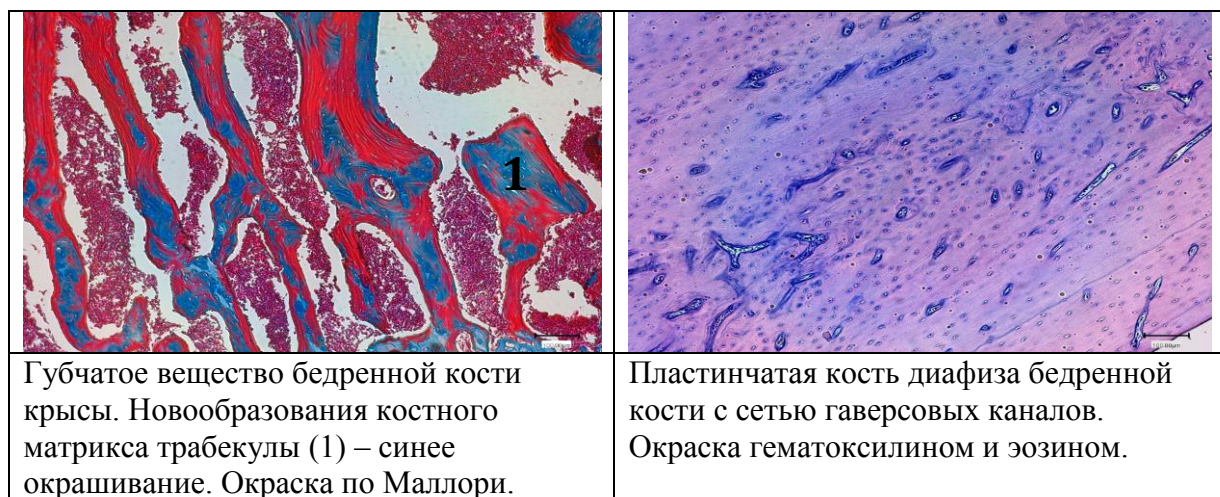


Рисунок 10. Гистологическая структура трубчатой кости крыс при сочетании применении антиоксидантного препарата и механоактивированной (нанодисперсной) аморфной формы кальция глюконата на фоне интоксикации дихлорэтаном (масштаб 100 мкм).

В толще костной ткани также наблюдались зоны остеогенеза по типу энхондрального окостенения. Строение пластинчатой кости диафиза существенно не отличалось от физиологической нормы. Морфометрия костной ткани выявила, что у подопытных крыс, которым одновременно вводили триовит и кальций-МАГ при действии дихлорэтана, в эпифизе бедра были статистически значимо выше суммарная площадь костных балок, поперечный размер костных трабекул и толщина суставного хряща. Тем не менее, у группы подопытных животных, получавших антиоксидантный препарат на фоне интоксикации дихлорэтаном в низких дозах, также выявились определенные характерные для действия этого вещества изменения гистологической структуры диафизов и эпифизов трубчатой кости. Однако, они выявились в значительно меньшей степени. Триовит, особенно в сочетании с кальций-МАГом, способствовал заметному снижению деструкции кости, предотвращению нарушений микроархитектоники остеонов и усилению процессов формирования новой костной ткани.

Введение антиоксидантного препарата и его сочетания с кальций-МАГом отражалось на состоянии печени и гормонального фона подопытных животных. У животных, получавших триовит и комбинацию триовита с кальций-МАГом, биохимические маркеры (альбумин, билирубин, АСТ, АЛТ, ОЩФ) функционального состояния печени статистически не различались с группой контроля или приближались к их значениям, характеризуя положительный эффект антиоксидантной поддержки организма животных при интоксикации дихлорэтаном.

Благоприятное действие оказывало использование триовита с кальций-МАГом и на гормональный статус экспериментальных животных (рисунок 11).

Под влиянием механоактивированной (нанодисперсной) аморфной формы кальция глюконата у подопытных крыс статистически значимо снижалось содержание ПТГ, приближаясь к уровню физиологических пределов колебаний, в то время как введение таблетированной формы препарата не обнаруживало эффекта. Триовит и комплекс триовита с кальций-МАГом способствовали повышению секреции у самцов крыс тестостерона, нормализации продукции ФСГ, ЛГ и пролактина, однако уровень кортизола у этих групп животных остался повышенным. Использование только кальций-МАГа не приводило к значимым изменениям

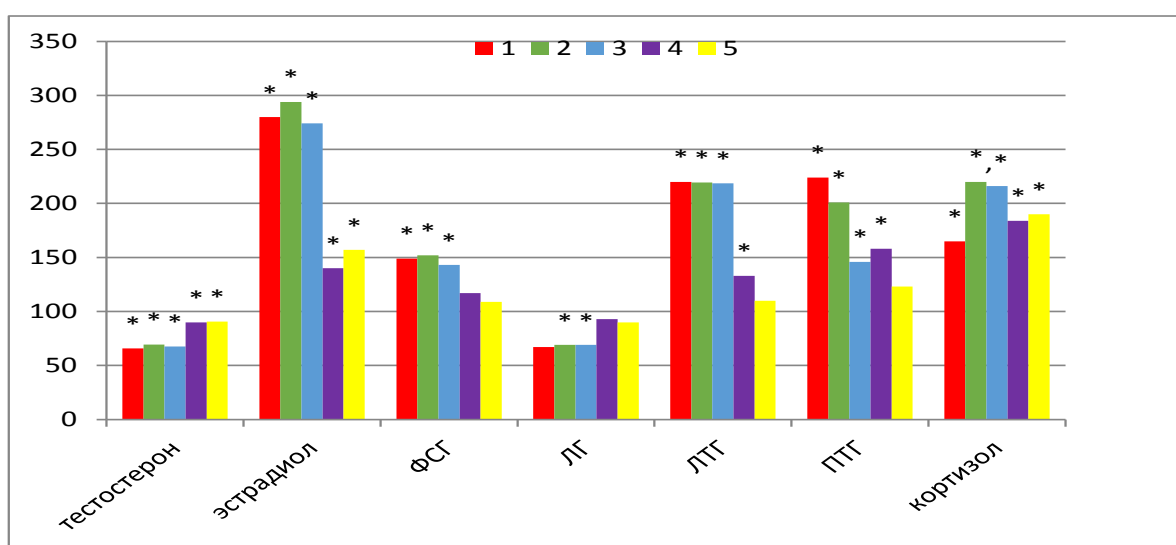


Рисунок 11. Гормональный фон у самцов крыс при интоксикации дихлорэтаном (1), введении кальция глюконата (2), кальций-МАГа (3), триовита (4) и сочетания кальций-МАГа с триовитом (5) (в % к контролю,

\*)  $p < 0,05$  по отношению к контрольной группе крыс).

Таким образом, препарат с антиоксидантным действие способствовал уменьшению реакции эндокринных желез при подострой интоксикации малыми дозами дихлорэтана. Применение сочетания антиоксидантов с нанодисперсной формой кальция глюконата на содержание половых гормонов и гонадотропинов обнаруживало эффект, не отличающийся от изолированного использования триовита, подчеркивая важную роль оксидативных сдвигов в развитии эндокринных изменений при действии дихлорэтана.

Использование механоактивированной (нанодисперсной) аморфной формы кальция глюконата при интоксикации хлорированным углеводородом, вероятно, в силу значительного повышения биодоступности, благодаря высокой дисперсности,

способствовало нормализации содержания в плазме крови ионизированного и общего кальция, снижению уровня паратиреоидного гормона, ингибированию костной резорбции и улучшению минерализации внеклеточного матрикса.

Результаты проведенных экспериментов, а также анализ литературных данных позволяют представить следующую обобщенную схему патогенеза остеотоксического действия исследуемых групп химических факторов производственной среды (рисунок 12).

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Обобщение патогенетических факторов влияния хлорпроизводных низкомолекулярных ациклических углеводов (дихлорэтана) и элементов медно-цинковой колчеданной руды позволяет констатировать, что ведущим звеном их остеотоксического действия является активация свободно-радикальных процессов на фоне снижения активности компонентов антиокислительной защиты. Это заключение подкрепляется результатами исследования эффективности применения антиоксидантного препарата. Аналогичное влияние исследуемые нами поллютанты оказывают и на другие ткани, прежде всего на основные органы детоксикации и выведения продуктов биотрансформации – печень и почки с развитием токсического гепатита и токсической нефропатии. Их недостаточность включает опосредованные механизмы развития остеопенического синдрома, связанные с нарушением фосфорно-кальциевого обмена и активации витамина D, гиперпродукцией паратиреоидного гормона. Важное значение в механизмах остеотоксического действия и хлорированных углеводов и элементов руды имеет изменение секреции системных гормонов, оказывающих через цитокиновую систему RANKL-RANK-OPG, а также и склеростин, воздействие на межклеточные взаимодействия остеокластического и остеобластического дифферонов костной ткани.



Рисунок 12. Схема остеотоксического действия химических факторов производственной среды (СРО – свободнорадикальное окисление, ПОЛ – перекисное окисление липидов).

## ВЫВОДЫ

1. При хронической интоксикации компонентами медно-цинковой колчеданной руды в костной ткани значительно увеличивается концентрация тяжелых металлов (Zn, Cu, Mn, Fe, Hg, Pb, Cd), в плазме крови снижается содержание кальция и фосфора, повышается уровень С-концевых телопептидов коллагена типа I, свидетельствуя об усилении резорбции.

2. Хроническая интоксикация элементами, содержащимися в руде, отрицательно отражается на белковом и окислительном метаболизме, гистологической структуре костной ткани: нарушается биосинтез и усиливается катаболизм коллагена, снижается уровень неферментативного и ферментативного звеньев антиокислительной защиты, повышается интенсивность свободно-радикального окисления липидов и модификации белков, наблюдается развитие деструктивно-дегенеративных процессов.

3. Остеотоксическое действие элементов медно-цинковой колчеданной руды при длительном поступлении проявляется изменением системы многоуровневой регуляции метаболизма костной ткани, остеобласто- и остеокластогенеза. Происходит снижение содержания в крови половых и тиреоидных гормонов, 25(OH)-витамина D, с повышением соотношения цитокинов sRANKL/остеопротегерин, уровней паратгормона, кортизола, пролактина и склеростина. Определенную роль в развитии этих процессов, играют нарушения функции и гистоструктуры печени и почек.

4. Длительное поступление в организм экспериментальных животных ациклических хлорированных углеводородов (дихлорэтан) в низких дозах (суммарно 0,05 ЛД<sub>50</sub> и 0,1 ЛД<sub>50</sub>) сопровождается дозозависимыми нарушениями минерального обмена, повышением интенсивности костного ремоделирования с превалированием процессов резорбции.

5. В костной ткани при подострой интоксикации дихлорэтаном усиливается катаболизм коллагена, нарушается биосинтетический потенциал клеток остеобластного фенотипа и минерализации костного матрикса, наблюдается активация процессов радикалообразования и липопероксидации с развитием недостаточности антиокислительной защиты, приводящие к дезорганизации ее микроструктуры, остеодистрофии и остеодеструкции.

6. Воздействие хлорированных углеводородов в низких дозах при длительном контакте приводит к изменениям в периферической крови уровней гормонов, активно участвующих в регуляции костного метаболизма, и локальных факторов регуляции ремоделирования. Снижается секреция половых гормонов, оказывающих анаболическое и антикатаболическое действие на обмен костной ткани, усиливается продукция паратгормона и пролактина, стимулирующие процессы резорбции и остеолiza. Повышается



уровень sRANKL, снижается содержание остеопротегерина, характеризуя усиление остеокластогенеза и активность остеокластов, стимулируется секреция склеростина, отражая ингибирование остеобластогенеза и активности остеобластов. Развитию нарушений минерального обмена и метаболизма костной ткани при интоксикации хлорированными углеводородами способствуют изменения функции и структуры печени (токсический гепатит), почек (токсическая нефропатия).

7. Применение комбинации антиоксидантного препарата с механоактивированной (нанодисперсной) аморфной формой кальция глюконата на фоне подострой интоксикации хлорированным ациклическим углеводородом (дихлорэтан) в суммарной дозе 0,1 ЛД<sub>50</sub>, оказывает выраженный профилактический эффект. Происходит увеличение содержания в плазме крови кальция, фосфора и магния, активности костной щелочной фосфатазы и снижение уровня С-концевых телопептидов коллагена типа I, характеризуя корреляцию процессов резорбции и остеогенеза.

8. Совместное применение антиоксидантного препарата и нанодисперсной формы кальция глюконата при подострой интоксикации дихлорэтаном приводит к ингибированию свободно-радикального окисления в костной ткани, повышению в ней общей антиоксидантной активности и активности основных антиоксидантных ферментов, снижению катаболизма коллагена, усилению биосинтеза коллагеновых белков и минерализации внеклеточного матрикса.

9. При подострой интоксикации хлорпроизводными алифатических углеводов сочетанное использование антиоксидантного препарата с нанодисперсной формой кальция глюконата способствует нормализации гормонального статуса (повышение секреции половых гормонов, снижение паратгормона и пролактина), улучшению функционального состояния печени.

10. В механизмах остеотоксического действия химических факторов производственной среды (хлорпроизводные алифатических углеводов, тяжелые металлы) ведущую роль играют усиление в костной ткани свободнорадикальных процессов, недостаточность и/или ингибирование компонентов антиоксидантной защиты. Нарушения функционального состояния и структуры печени и почек, повышение уровня гормонов и цитокинов, активирующих катаболизм и остеокластогенез, снижение секреции системных регуляторов и цитокинов, стимулирующих остеобластогенез и анаболические процессы, способствуют развитию остеопении и остеопороза.

**СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**  
**Работы, опубликованные в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Минобрнауки России:**

1. Ганеев, Т.И. Метаболизм костной ткани периферического скелета и пародонта при хронической интоксикации низкими дозами дихлорэтана и эффективность действия антиоксидантного витаминного препарата / Т.И. Ганеев, Э.Р. Бикметова, **Е.Р. Фаршатова**, Ф.Х. Камилов // Медицинская наука и образование Урала. -2010. - №4 (64). - С.45-49.

2. Камилов, Ф.Х. Ремоделирование костной ткани при действии хлорпроизводных низкомолекулярных алифатических углеводов / Ф.Х. Камилов, Т.И. Ганеев, **Е.Р. Фаршатова**, Э.Р. Бикметова, И.А. Меньшикова, Г.В. Иванова // Медицинский вестник Башкортостана. - 2011. – Т.6, №2. - С 305-309.

3. Камилов, Ф.Х. Влияние антиоксидантного витаминного препарата и нанодисперсной кальциевой соли глюконовой кислоты на обмен костной ткани нижней челюсти у крыс при хронической интоксикации дихлорэтаном / Ф.Х. Камилов, Т.И. Ганеев, **Е.Р. Фаршатова**, Н.С. Стрелков // Астраханский медицинский журнал. – 2011.- №3. - С.88-91.

4. Бикметова, Э.Р. Эффективность коррекции антиоксидантным витаминным препаратом изменений гистоструктуры костной ткани при хронической интоксикации дихлорэтаном / Э.Р. Бикметова, Ф.А. Каюмов, **Е.Р. Фаршатова**, Т.И. Ганеев, Ф.Х. Камилов // Морфологические ведомости. - 2011. - №3. - С.16-22.

5. Меньшикова, И.А. Эффективность действия механоактивированной аморфной формы глюконата кальция и антиоксидантного витаминного комплекса на метаболизм костной ткани при хронической интоксикации хлорированным углеводородом / И.А. Меньшикова, Э.Р. Бикметова, **Е.Р. Фаршатова**, Т.И. Ганеев, Г.В. Иванова // Омский научный вестник. – 2011. - №1(104). - С.85-88.

6. **Фаршатова, Е.Р.** Эффективность комплексного применения механоактивированной аморфной формы глюконата кальция и антиоксидантного витаминного препарата на показатели минерального обмена и ремоделирования костной ткани при хронической интоксикации дихлорэтаном / Е.Р. Фаршатова, Т.И. Ганеев, Г.В. Иванова, И.А. Меньшикова, Ф.Х. Камилов // Медицинская наука и образование Урала. - 2011. - Т.12, №4 (68). - С.49-52.

7. Аглетдинов, Э.Ф. Влияние полиметаллической пыли медно-цинковых колчеданных руд на состояние минерального обмена и костной ткани / Э.Ф. Аглетдинов, Н.В. Нургалеев, **Е.Р. Фаршатова**, Э.И. Таирова, А.И. Алтынбаева, Г.В. Иванова, Ф.Х. Камилов, З.С. Терегулова, А.А. Никоноров //

Вестник Оренбургского государственного университета. – 2011. - №15 (134). - С.15-18.

8. Камилов, Ф.Х. Патогенетические механизмы остеотоксического действия хлорсодержащих углеводов / Ф.Х. Камилов, И.А. Меньшикова, **Е.Р. Фаршатова**, Э.Р. Бикметова, Г.В. Иванова, Л.М. Мустаева // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2012. - №2 (39). - С.116.

9. Нургалеев, Н.В. Метаболизм костной ткани нижней челюсти при длительном поступлении элементов медно-цинковых колчеданных руд в эксперименте / Н.В. Нургалеев, **Е.Р. Фаршатова**, Э.Ф. Аглетдинов, Ф.Х. Камилов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2012. - №5. - С.78-81.

10. Нургалеев, Н.В. Гистологическая структура трубчатой кости у белых крыс при действии компонентов медно-цинковых колчеданных руд / Н.В. Нургалеев, Э.Ф. Аглетдинов, **Е.Р. Фаршатова**, Э.Р. Бикметова, И.А. Меньшикова, Ф.Х. Камилов // Медицинский вестник Башкортостана. - 2013. - Т.8, № 1. - С. 89-92.

11. Никаноров, А.А. Перспективно ли использование нанодисперсной формы кальция глюконата при переломах трубчатых костей / А.А. Никаноров мл., **Е.Р. Фаршатова**, Э.Р. Бикметова, А.А. Никаноров, Ф.Х. Камилов // Интеллект. Инновации. Инвестиции. Академический журнал. – 2013. - №1. - С.142-144.

12. **Фаршатова, Е.Р.** Коррекция остеотоксического действия хлоруглеводородов нанодисперсной формой кальция глюконата и антиоксидантным витаминным препаратом / Е.Р. Фаршатова, Т.И. Ганеев, И.А. Меньшикова, Л.М. Мустаева, Г.В. Иванова, Э.Ф. Аглетдинов // Интеллект. Инновации. Инвестиции. Академический журнал. – 2013. - №1. - С.145-148.

13. Камилов, Ф.Х. Особенности обмена костной ткани при хронической интоксикации элементами, содержащимися в медно-цинковых колчеданных рудах / Ф.Х. Камилов, **Е.Р. Фаршатова**, Н.В. Нургалеев, Г.В. Иванова, Э.Р. Бикметова, И.А. Меньшикова // Медицинская наука и образования Урала. – 2013. - №1. – С.27-31.

14. Камилов, Ф.Х. Клеточно-молекулярные механизмы ремоделирования костной ткани и ее регуляции / Ф.Х. Камилов, **Е.Р. Фаршатова**, Д.А. Еникеев // Фундаментальные исследования. - 2014. - №7. - С. 836-842.

15. **Фаршатова, Е.Р.** Действие дихлорэтана на перекисное окисление липидов костной ткани при хронической интоксикации экспериментальных животных / Е.Р. Фаршатова // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014.- Т.9.- №4. – С. 53-55.

16. **Фаршатова, Е.Р.** Влияние металлов, содержащихся в медно-цинковых колчеданных рудах, на метаболизм костной ткани / Е.Р. Фаршатова, И.А. Меньшикова, Ф.Х. Камилов // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014.- Т.9.- №4. – С. 56-58.

17. **Фаршатова, Е.Р.** Уровень системных и локальных факторов регуляции ремоделирования костной ткани при действии металлов, содержащихся в медно-цинковой колчеданной руде / Е.Р. Фаршатова, Г.В. Иванова, Д.А. Еникеев, Ф.Х. Камилов // Международный научно-исследовательский журнал. – Екатеринбург, 2015. - № 2 (33). – С.64-66.

18. Камилов, Ф.Х. Плазменная концентрация белков регуляторов остеокластогенеза и остеобластогенеза при подострой интоксикации дихлорэтаном / Ф.Х. Камилов, **Е.Р. Фаршатова**, Д.А. Еникеев, Т.И. Ганеев // Фундаментальные исследования. - 2015. - №1.Ч.7. - С. 1363-1365.

19. Камилов, Ф.Х. Биохимические маркеры костного и остеокластического дифференцирования в плазме крови при подострой интоксикации дихлорэтаном / Камилов Ф.Х., **Фаршатова Е.Р.**, Еникеев Д.А. Иванова Г.В. // Казанский медицинский журнал. – 2015. - №5 .С.828-831.

20. **Фаршатова, Е.Р.** Влияние элементов медно-цинковых колчеданных руд на ремоделирование костной ткани и факторы его регуляции / Фаршатова Е.Р., Ганеев Т.И., Меньшикова И.А., Сарменеева Л.В., Нургалеев Н.В., Камилов Ф.Х.// Казанский медицинский журнал. – 2015. - №5 .С.783-787. Материалы научных конференций:

1. Ганеев, Т.И. Влияние механоактивированной аморфной кальциевой соли глюконовой кислоты на метаболизм костной ткани при интоксикации дихлорэтаном [Текст] / Т.И. Ганеев, И.А. Меньшикова, Л.М. Мустаева, Е.Р. Фаршатова Сборник научных трудов конференции учёных РБ с международным участием «НАУЧНЫЙ ПРОРЫВ – 2010» – Уфа, 2010. - С.32-37.

2. Камилов,Ф.Х. Ремоделирование костной ткани при действии хлорпроизводных алифатических углеводов: Материалы конференции «Связь заболевания с профессией с позиций доказательной медицины» /Ф.Х. Камилов, Т.И. Ганеев, Е.Р. Фаршатова, Э.Р. Бикметова, И.А. Меньшикова, Г.В. Иванова. - Казань, 2011. - С. 274-276.

3. Эффективность нанодисперсной кальциевой соли глюконата и антиоксидантного витаминного препарата на уровень гормонов, регулирующих костный обмен при хронической интоксикации дихлорэтаном: Материалы 76-ой Республиканской научной конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Вопросы теоретической и практической медицины» / Т.И. Ганеев, Е.Р. Фаршатова, Э.Р. Бикметова, И.А. Меньшикова - Уфа, 2011.- Том 2.- С. 39-41.

4. Патогенетические механизмы развития остеопороза при действии низкомолекулярных хлорированных ациклических углеводов: Сборник научных трудов по материалам Всероссийской научно-практической конференции «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева» / Ф.Х. Камилов, Е.Р. Фаршатова, Г.В. Иванова. – Рязань, 2012. - С.75-79.

5. Эффективность комплексного применения механоактивированной аморфной (нанодисперсной формы) кальция глюконата и антиоксидантного витаминного препарата на метаболизм костной ткани у крыс при хронической интоксикации дихлорэтаном (ДХЭ): Материалы научно-практической конференции с международным участием «Илизаровские чтения» / Е.Р. Фаршатова, Ф.Х. Камилов, Г.В. Иванова, Т.И. Ганеев. - Курган, 2012. - С.286-287.
6. Метаболизм костной ткани верхней челюсти при длительном поступлении элементов медно-цинковых колчеданных руд в эксперименте: Материалы Международной конференции молодых ученых «МЕДИЦИНСКАЯ НАУКА - 2012» / Э.Ф. Аглетдинов, Е.Р. Фаршатова, Н.В. Нургалеев, Л.М. Мустаева, Г.В. Иванова, Ф.Х. Камилов. - Уфа, 2012. - С.6-11.
7. Остеотоксический эффект хлорпроизводных алифатических углеводов и влияние комбинированного лечения нанодисперсной формой кальция глюконата с антиоксидантным витаминным препаратом: Материалы научно-практической конференции «Остеопороз – важная мультидисциплинарная проблема здравоохранения XXI века» / Ф.Х. Камилов, И.А. Меньшикова, Е.Р. Фаршатова, Г.В. Иванова, Э.Р. Бикметова, Т.И. Ганеев. - Санкт-Петербург, 2012. - С.137-141.
8. Влияние на обмен костной ткани верхней челюсти полиэлементов медно-цинковой колчеданной руды при хроническом воздействии: Материалы научно-практической конференции «Остеопороз – важная мультидисциплинарная проблема здравоохранения XXI века» / Е.Р. Фаршатова, Н.В. Нургалеев, Э.Ф. Аглетдинов, Ф.Х. Камилов. - Санкт-Петербург, 2012. - С.159-162.
9. Антиоксиданты как ингибиторы остеотоксического действия хлорорганических соединений: Материалы Восьмой международной крымской конференции «Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии» / Г.В. Иванова, Ф.Х. Камилов, Э.Р. Бикметова, Е.Р. Фаршатова. - Крым, 2012. - С.29.
10. Эффективность действия антиоксидантного витаминного комплекса и нанодисперсной формы глюконата кальция при хронической интоксикации хлорированным углеводородом: III Международная научно-практическая конференция «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине» / Э.Р. Бикметова, И.А. Меньшикова, Е.Р. Фаршатова, Т.И. Ганеев, Ф.Х. Камилов. – Казань, 2012. - С.236-237.
11. Механоактивированная аморфная (нанодисперсная) форма кальция глюконата в лечении остеопенического состояния, вызванного введением дихлорэтана: Сборник трудов VI международной научно-практической конференции «Научная дискуссия: Вопросы медицины» / Е.Р. Фаршатова. - Москва, 2012. - С.36-43.
12. Характеристика минерального обмена при действии компонентов медно-цинковых руд в эксперименте: Материалы IV российской научно-

практической конференции «Здоровье человека в XXI веке» / Н.В. Нургалеев, Э.Ф. Аглетдинов, Е.Р. Фаршатова, Ф.Х. Камилов, Г.В. Иванова. - Казань, 2012. - С.829-834.

13. Изменения гистоструктуры тканей пародонта и кости лицевого скелета при хронической интоксикации дихлорэтаном и введении нанодисперсной формы кальция глюконата: Материалы X Международной научной конференции «Роль природных факторов и туризма в формировании здоровья населения» / Е.Р. Фаршатова, Т.И. Ганеев, Э.Р. Бикметова, Л.М. Мустаева, Э.Ф. Аглетдинов. - Иремель, 2012. - С.157-165.

14. Эффективность действия Кальций-МАГ на метаболизм костной ткани крыс при хронической интоксикации хлорпроизводными алифатических углеводов: Сборник трудов международного симпозиума «Биохимия – основа наук о жизни», посвященного 150-летию образования кафедры биохимии Казанского университета / И.А. Меньшикова, Э.Р. Бикметова, Ф.Х. Камилов, Г.В. Иванова, Е.Р. Фаршатова. - Казань, 2013. - С.98-99.

15. Активация свободно-радикальных процессов – основной механизм остеотоксического действия компонентов медно-цинковых колчеданных руд: Материалы десятой юбилейной международной конференции «Окислительный стресс и свободнорадикальные патологии» / Ф.Х. Камилов, Е.Р. Фаршатова, Г.В. Иванова, Е.А. Нургалеева. - Пицунда, Абхазия, 2014г. - С.23.

16. Фаршатова, Е.Р. Уровень системных и локальных факторов регуляции ремоделирования костной ткани при действии металлов, содержащихся в медно-цинковой колчеданной руде /Е.Р. Фаршатова, Г.В. Иванова, Д.А. Еникеев, Ф.Х. Камилов // Сборник по результатам XXXVI заочной научной конференции Research Journal of International Studies // Международный научно-исследовательский журнал. – Екатеринбург, 2015. - № 2 (33). – С.64-66.

17. Влияние элементов медно-цинковой колчеданной руды на кальций-фосфорный обмен: Материалы конференции «Здоровье человека XXI века» / Э.Р. Бикметова, Е.Р. Фаршатова, Н.В. Нургалеев. - Казань, 2015. - С. 653-658.

18. Уровень половых и гонадотропных гормонов при действии полиметаллической пыли медно-цинковых колчеданных руд: Материалы VII российской научно-практической конференции «Здоровье человека в XXI веке» / Ф.Х. Камилов, Е.Р. Фаршатова, И.А. Меньшикова, Т.И. Ганеев. - Казань, 2015. - С.671-677.

19. Гистологические изменения костной ткани нижней челюсти при хронической интоксикации компонентами медно-цинковой колчеданной руды: Материалы научно-практической конференции с международным участием «Илизаровские чтения» / Ганеев Т.И., Иванова Г.В., Сармакаева Л.В., Бикметова Э.Р., Фаршатова Е.Р. – г. Курган, 2015 – С. 140-141.

20. Маркеры остеокластогенеза и остеобластогенеза при подострой интоксикации дихлорэтаном: Материалы научно-практической конференции с

международным участием «Илизаровские чтения» / Камиллов Ф.Х., Фаршатова Е.Р., Иванов В.Г., Меньшикова И.А. – г. Курган, 2015 – С. 155-156.

21. Гормональные и локальные факторы регуляции ремоделирования костной ткани при действии элементов медно-цинковых колчеданных руд: Материалы научно-практической конференции с международным участием «Илизаровские чтения» / Фаршатова Е.Р., Ганеев Т.И., Камиллов Ф.Х. – г. Курган, 2015 – С. 194-22. Гистологические изменения костной ткани нижней челюсти при хронической интоксикации компонентами медно-цинковой колчеданной руды: Материалы научно-практической конференции с международным участием «Илизаровские чтения» / Ганеев Т.И., Иванова Г.В., Сармакаева Л.В., Бикметова Э.Р., Фаршатова Е.Р. – г. Курган, 2015 – С. 140-141.

Патенты.

1. Мазь с наносубстанцией кальция глюконата для лечения кожных заболеваний, связанных с недостатком кальция в организме: пат.2506071 Рос. Федерация : МПК А61К 9/06, А61К 31/185, А61К 47/10, А61К 47/20, А61Р 17/00/ Ф.Х. Камиллов, Ю.В. Шикова, Г.В. Иванова, Е.Р. Фаршатова, Г.Н. Коньгин, Д.С. Рыбин, Е.П. Елсуков, Н.С. Стрелков; заявитель и патентообладатель Ф.Х. Камиллов, Г.В. Иванова, Г.Н. Коньгин, Д.С. Рыбин. – № 2012152223/15; заявл.04.12.2012, опубл.10.02.2014, Бюл. № 4.

2. Суппозиторий с наносубстанцией кальция глюконата для лечения заболеваний, связанных с недостатком кальция в организме: пат. 2511649 Рос. Федерация : МПК А61К 9/02, А61К 31/191, А61К 33/06, А61К 47/44, А61Р 3/14 / Ф.Х. Камиллов, Ю.В. Шикова, Г.В. Иванова, Е.Р. Фаршатова, Г.Н. Коньгин, Д.С. Рыбин, Е.П. Елсуков, Н.С. Стрелков; заявитель и патентообладатель Ф.Х. Камиллов, Г.В. Иванова, Г.Н. Коньгин, Д.С. Рыбин. - №2012152221/15; заявл.04.12.2012, опубл. 10.04.2014, Бюл. № 10.

3. Стоматологический карандаш с наносубстанцией кальция глюконата для лечения заболеваний, связанных с недостатком кальция: пат.2533264 Рос. Федерация : МПК А61К 33/06, А61К 33/10, А61К 31/191, А61Q 11/00, В82В 1/00 / Ф.Х. Камиллов, Ю.В. Шикова, Г.В. Иванова, Е.Р. Фаршатова, Г.Н. Коньгин, Д.С. Рыбин, Е.П. Елсуков, Н.С. Стрелков; заявитель и патентообладатель Ф.Х. Камиллов, Г.В. Иванова, Г.Н. Коньгин, Д.С. Рыбин. – № 2012152225/15; заявл. 04.12.2012, опубл. 20.11.2014, Бюл. № 32.

Монография:

Остеопороз: Влияние химических факторов производственной среды на метаболизм костной ткани / Монография: Ф.Х. Камиллов, Е.Р. Фаршатова, И.А. Меньшикова, Э.Р. Бикметова, Т.И. Ганеев. – Уфа: Изд-во «Мир печати», 2015 – стр.311.

**Сокращения:**

БСО – белковосвязанный оксипролин  
ГАГ – гликозаминогликаны  
ГПО – глутатионпероксидаза  
ГТПП – гамма-глутамилтранспептидаза  
ДК – диеновые конъюгаты гидроперекисей  
ДЭ – дихлорэтан  
КД – кетодиены  
КЩФ – костная щелочная фосфатаза  
ОАА – общая антиокислительная активность  
ОБ – остеобласт  
ОК – остеокласт  
ОП – остеопороз  
ОЩФ – общая щелочная фосфатаза  
ПОЛ – перекисное окисление липидов  
ПТГ – паратиреоидный гормон  
СОД – супероксиддисмутаза  
СО – свободный оксипролин  
СТ – сопряженные триены  
ТБК-ап – продукты, активно реагирующие с тиобарбитуровой кислотой  
ТТГ – тиреотропный гормон  
Cross Laps – С-концевые телопептиды коллагена типа I  
M-CSF – макрофагальный колониестимулирующий фактор  
OPG – остеопротегерин, ложный рецептор RANKL  
RANKL – лиганд активатора рецептора ядерного фактора каппа Б  
TNF – фактор некроза опухоли